

**EFEKTIVITAS PENGHAMBATAN SERESAH *Anacardium occidentale*,  
*Manihot esculenta* DAN *Curcuma domestica* TERHADAP POTENSIAL  
NITRIFIKASI DAN BAKTERI NITRIFIKASI DI ALFISOLS  
JUMANTONO**



Oleh :  
**WIDANINGSIH**  
**H0204066**

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2008**

**EFEKTIVITAS PENGHAMBATAN SERESAH *Anacardium occidentale*,  
*Manihot esculenta* DAN *Curcuma domestica* TERHADAP POTENSIAL  
NITRIFIKASI DAN BAKTERI NITRIFIKASI DI ALFISOLS  
JUMANTONO**

**Skripsi**

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
guna memperoleh derajat Sarjana Pertanian  
di Fakultas Pertanian  
Universitas Sebelas Maret**

**Jurusan/Program Studi Ilmu Tanah**



**Oleh :**

**WIDANINGSIH  
H0204066**

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2008**

**EFEKTIVITAS PENGHAMBATAN SERESAH *Anacardium occidentale*,  
*Manihot esculenta* DAN *Curcuma domestica* TERHADAP POTENSIAL  
NITRIFIKASI DAN BAKTERI NITRIFIKASI DI ALFISOLS  
JUMANTONO**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

WIDANINGSIH

H0204066

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal:.....

Susunan Tim Penguji:

Ketua

Anggota I

Anggota II

Dr. Ir. Purwanto, MS

MP

NIP. 131 127 138  
883

Ir. Jauhari Syamsiyah, MS

NIP. 131 258 865

Ir. Sri Hartati,

NIP. 131 633

Surakarta, .....

Mengetahui

Universitas Sebelas Maret

Fakultas Pertanian

Dekan

Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS

NIP. 131 124 609

## KATA PENGANTAR

Dengan kerendahan hati, syukur Alhamdulillah Penulis panjatkan atas nikmat yang diberikan Allah Ta' ala karena atas kehendak-Nya segala sesuatu akan terjadi, sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi ini untuk memenuhi syarat dalam mendapatkan gelar Sarjana Pertanian.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak yang telah memberikan bimbingan semangat serta bantuan moril maupun materiil sejak persiapan hingga penyusunan. Untuk itu Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Dr. Ir. Purwanto, MS selaku Pembimbing Utama. Terima kasih atas bimbingan, motivasi dan masukan ilmu pengetahuan yang mendalam serta kepercayaan yang telah diberikan kepada Penulis untuk melakukan penelitian demi penyusunan skripsi ini.
3. Ir. Jauhari Syamsiyah, MS selaku Pembimbing Pendamping yang senantiasa memberikan masukan ilmu pengetahuan, bimbingan, pengarahan dan motivasi demi baiknya karya ini.
4. Ir. Sri Hartati, MP selaku Tim Dewan Penguji. Terima kasih atas masukan ilmu pengetahuan dan pengarahan kepada Penulis dalam penyusunan skripsi ini.
5. Drs. Sutarno, MSi selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan semangat dan dorongan dalam penyusunan skripsi ini.

Akhirnya, semoga karya yang sangat luar biasa sederhana sekali ini bermanfaat.

Surakarta, Juli 2008

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
RINGKASAN .....	ix
<i>SUMMARY</i> .....	x
 I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah .....	2
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	3
 II. LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka .....	4
1. Efisiensi Pemupukan Nitrogen.....	4
2. Nitrifikasi .....	4
3. Bakteri Nitrifikasi .....	5
4. Senyawa Penghambat Nitrifikasi .....	6
5. Dekomposisi dan Kualitas Seresah .....	8
6. Seresah yang Mengandung Senyawa Penghambat Nitrifikasi.....	10
a. <i>Anacardium occidentale</i> (Jambu Mete) .....	10
b. <i>Manihot esculenta</i> (Ubi Karet) .....	11
c. <i>Curcuma domestica</i> (Kunyit).....	13
7. Tanah Alfisol.....	13
8. Hasil Penelitian Pendahuluan.....	14
B. Kerangka Berpikir.....	15
C. Hipotesis Penelitian.....	16

### III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian .....	17
B. Bahan dan Alat .....	17
C. Perancangan Penelitian .....	17
D. Variabel yang Diamati .....	18
E. Tata Laksana Penelitian .....	21
F. Analisis Data .....	22

### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....

A. Karakteristik Tanah Alfisol.....	23
B. Analisa Kualitas Seresah.....	24
C. Peran Kualitas Seresah Terhadap Penghambatan Potensial Nitrifikasi	25
D. Hubungan Kualitas Seresah Terhadap Mikrobia Tanah dan Potensi Nitrifikasi	
1. Mikrobia Autotrof (Bakteri Nitrifikasi) .....	29
2. Mikrobia Heterotrof (Fungi, Bakteri dan <i>Actinomycetes</i> ) .....	35

### V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN.....	41
B. SARAN .....	41
1. Saran bagi peneliti berikutnya.....	41
2. Saran bagi petani Juamantono.....	42
3. Saran bagi penentu kebijakan .....	42

DAFTAR PUSTAKA .....	43
----------------------	----

### LAMPIRAN

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
1.	Kombinasi Perlakuan Pada Berbagai Waktu Inkubasi .....	18
2.	Hasil Analisis Tanah Alfisol .....	23
3.	Hasil Analisis Kualitas Seresah .....	24
4.	Hasil Analisis Ragam Pengaruh Pemberian Seresah Terhadap Potensial Nitrifikasi.....	25

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
1.	Kerangka Berpikir.....	15
2.	Grafik pola potensial nitrifikasi oleh pemberian seresah pada berbagai waktu inkubasi.....	26
3.	Histogram potensial nitrifikasi pada berbagai pemberian seresah tanaman .....	27
4.	Hubungan nisbah C/N (A) dan (P+L)/N (B) terhadap potensial nitrifikasi pada berbagai waktu inkubasi .....	28
5A.	Histogram bakteri pengoksidasi $\text{NH}_4^+$ antar perlakuan seresah.....	29
5B.	Histogram bakteri pengoksidasi $\text{NO}_2^-$ antar perlakuan seresah .....	30
6.	Hubungan potensial nitrifikasi dengan bakteri pengoksidasi $\text{NH}_4^+$ (A) dan bakteri pengoksidasi $\text{NO}_2^-$ (B) pada berbagai waktu inkubasi .....	31
7.	Hubungan pH (A), kelembaban (B) dan suhu tanah (C) pada berbagai waktu inkubasi terhadap potensial nitrifikasi.....	33
8A.	Histogram fungi pada berbagai pemberian seresah tanaman.....	35
8B.	Histogram bakteri heterotrof pada berbagai pemberian seresah tanaman .....	36

8C. Histogram actinomycetes pada berbagai pemberian seresah tanaman .....	36
9A. Hubungan fungi terhadap potensial nitrifikasi pada berbagai pemberian seresah dan waktu inkubasi .....	37
9B. Hubungan bakteri heterotrof terhadap potensial nitrifikasi pada berbagai pemberian seresah dan waktu inkubasi .....	38
9C. Hubungan actinomycetes terhadap potensial nitrifikasi pada berbagai pemberian seresah dan waktu inkubasi .....	38

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1.	Sifat Kimia Tanah Pada Berbagai Perlakuan dan Waktu Inkubasi...	36
2.	Populasi Bakteri Nitrifikasi.....	46
3.	Populasi Mikrobial Heterotrof .....	47
4.	Potensial Nitrifikasi Pada Berbagai Waktu Inkubasi .....	47
5.	Hasil Ringkasan Uji DMR Taraf 5% Mikrobial Tanah .....	48
6.	Hasil Ringkasan Uji DMR Taraf 5% Potensial Nitrifikasi .....	49
7.	Hasil Ringkasan Uji F .....	49
8.	Ringkasan Hasil Uji Korelasi Kualitas Sereas (Nisbah C/N, Polifenol, Lignin, Nisbah (P+L)/N dengan Potensial Nitrifikasi, Bakteri Nitrifikasi dan Mikrobial Heterotrof .....	49
9.	Ringkasan Hasil Uji Korelasi Potensial Nitrifikasi, Bakteri Nitrifikasi dan Mikrobial Heterotrof dengan pH, Kelembaban dan Suhu .....	50
10.	Estimasi Kehilangan N Karena Nitrifikasi di Alfisols Jumantono ...	50
11.	Analisa Statistika.....	52
12.	Foto Selama Kegiatan Penelitian .....	63
13.	Metode <i>Berg and Rosswall</i> , 1985 (potensial nitrifikasi) dan <i>Most Probable Number</i> (MPN) untuk Bakteri Nitrifikasi .....	69



## RINGKASAN

WIDANINGSIH. H0204066. EFEKTIVITAS PENGHAMBATAN SERESAH *Anacardium occidentale*, *Manihot esculenta* dan *Curcuma domestica* TERHADAP POTENSIAL NITRIFIKASI DAN BAKTERI NITRIFIKASI DI ALFISOLS JUMANTONO.

Nitrifikasi adalah proses yang tidak dikehendaki karena menyebabkan hilangnya N tanah dan N pupuk juga menimbulkan masalah lingkungan antara lain menyebabkan *eutrofikasi* dan penyakit *methemoglobinemia* pada bayi dan ternak apabila air yang diminum tercemar  $\text{NO}_3^-$  hasil nitrifikasi. Upaya pengendalian nitrifikasi secara tidak langsung dapat dilakukan melalui pengaturan kualitas masukan seresah. Kualitas seresah akan mempengaruhi nitrifikasi karena  $\text{NH}_4^+$  dalam tanah akan segera terimmobilisasi oleh mikrobia heterotrof selama dekomposisi seresah, sehingga tidak menyisakan substrat untuk nitrifikasi.

Tujuan penelitian adalah mengkaji pengaruh pemberian kualitas masukan seresah *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* terhadap potensial nitrifikasi dan populasi bakteri nitrifikasi di Alfisols Jumantono, mengetahui lama waktu inkubasi dan kualitas seresah yang paling menghambat proses nitrifikasi dan populasi bakteri nitrifikasi di Alfisols Jumantono.

Penelitian bersifat eksperimen yang dilaksanakan dari bulan Juni sampai Agustus 2007 di rumah kaca menggunakan pot tanah (Non Destructif Soil Sampling) dan perlakuan diatur menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sedangkan analisisnya dilakukan di Laboratorium Biologi Tanah Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta. Seresah yang diuji mewakili seresah kualitas rendah (*Anacardium occidentale*), kualitas sedang (*Curcuma domestica*) dan kualitas tinggi (*Manihot esculenta*). Semua perlakuan ditambah pupuk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  sebanyak 0.072 gram. Sebagai kontrol, tanah tidak ditambah seresah namun diberi pupuk. Peubah yang diukur meliputi potensial nitrifikasi, populasi bakteri nitrifikasi dan mikrobia heterotrof, nisbah C/N tanah, pH tanah, suhu tanah dan kelembaban tanah.

Hasil penelitian menunjukkan: a).Pemberian seresah *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* berpengaruh sangat nyata menurunkan potensial nitrifikasi, populasi bakteri nitrifikasi dan mikrobia heterotrof dengan P value = 0.000. b).Pemberian seresah *Manihot esculenta* (berkualitas tinggi dengan kandungan polifenol 4.75 %, lignin 15.92 %, nisbah C/N 18.17 dan nisbah (P+L/N) 17.42) menurunkan potensial nitrifikasi sebesar 8.82%, seresah *Curcuma domestica* (berkualitas sedang dengan kandungan polifenol 2.53 %, lignin 11.18 %, nisbah C/N 22 dan nisbah (P+L/N) 19.87) sebesar 34.26 % namun, seresah *Anacardium occidentale* (berkualitas rendah dengan kandungan polifenol 16.44 %, lignin 27.28 %, nisbah C/N 25.56 dan nisbah (P+L/N) 24.50) mampu menurunkan potensial nitrifikasi Alfisols Jumantono hingga 70.54 % (yaitu dari 4.99 menjadi 1.47  $\text{mg NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ ).c).Waktu inkubasi yang paling efektif menurunkan nitrifikasi dari pemberian seresah *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* adalah hari ke-20 dengan potensial nitrifikasi terendah sebesar 1.47  $\text{mg NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ .d).Kandungan kualitas seresah yang berkorelasi paling erat terhadap penurunan potensial nitrifikasi adalah nisbah (P+L)/N (27.4 %) kemudian diikuti lignin (27.2 %), nisbah C/N (19.6 %) dan polifenol (16.7 %) secara

terpisah.e).Potensial nitrifikasi cenderung berkorelasi positif dengan bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$ , fungi dan berkorelasi negatif dengan actinomycetes, bakteri heterotrof serta bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$ .

**Kata-kata kunci:** Potensial nitrifikasi, bakteri nitrifikasi, kualitas seresah.

## SUMMARY

WIDANINGSIH. H0204066. THE EFFECTIVITY OF INHIBITION *Anacardium occidentale*, *Manihot esculenta* and *Curcuma domestica* LITTER TOWARD NITRIFICATION POTENTIAL AND POPULATION OF NITRIFYING BACTERIA IN ALFISOLS JUMANTONO

Nitrification can decreased of N soil and N fertilizer and caused environmental problems such as eutrofikasi and methemoglobinemia on babies and cattle if the drinking water contaminated by  $\text{NO}_3^-$  from nitrification. Efforts to control nitrification indirectly can be achieved with litter quality input. Litter quality will influences nitrification because  $\text{NH}_4^+$  of the soil will be soon immobilized by heterotrof microbial during litter substance decomposition until there is no substance for nitrification process.

The objectives of research were to study the effect of litter quality input as first *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* and *Manihot esculenta* toward nitrification potential and population of nitrifying bacteria, to know long time of incubation and kind of litter quality which the most effective inhibiting nitrification potential and population of nitrifying bacteria in Alfisols Jumantono.

This research is an axperimental was carried out in June to August 2007 at green house and conducted by using soil pots (Non Destructif Soil Sampling) with elementary basic pattern of Completed Random Design (CRD) then was analysed at Soil Biology Laboratory Agriculture Department Sebelas Maret. The litter observation substitused high litter quality (*Manihot esculenta*), middle litter quality (*Curcuma domestica*) and low litter quality (*Anacardium occidentale*). All of threatment were giving 0.072 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  fertilizer expect control, soil did't give litter but was added fertilizer. The observation variables are nitrification potential, population nitrifying bacteria and heterotrof microbial, C/N ratio, pH of soil, soil temperature and humidity soil.

The result of research showed that: a). The result of research showed that: a). *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* and *Manihot esculenta* litter very real influence decreased nitrification potential, population of nitrifying bacteria and heterotrof microbial with  $P\text{-value} = 0.000$ . b) *Manihot esculenta* litter (hight litter quality with 4.75% of polifenol, 15.92% of lignin, 18.17 of C/N ratio, and 17.42 of (P+L)/N ratio) decreased nitrification potential 8.82%, *Curcuma domestica* litter (medium litter quality with 2.53% of polifenol, 11.18% of lignin, 22 of C/N ratio, and 19.87 of (P+L)/N ratio) decreased nitrification 34.26% but *Anacardium occidentale* (low litter quality with 16.44% of polifenol, 27.28% of lignin, 25.56 of C/N ratio, and 24.50 of (P+L)/N ratio) can decreased nitrification potential Alfisols Jumantono up to 70.54 % (from 4.99 became 1.47 mg  $\text{NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ ). c). The efective time to decrease potential nitrification on last incubation (on 20 day that is 1.47 mg  $\text{NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ ). d). Kind of litter quality which the most correlated toward decrease potential nitrification is (P+L)/N ratio (27.4 %) then lignin (27.2 %), C/N ratio (19.6 %) and polifenol (16.7 %) with separated. e). Nitrificaton potential  $\text{NH}_4^+$  nitrifying oxidizer bacteria and fungi was positive correlated however, was negative correlated with Actinomycetes, heterotrof bacteria and  $\text{NO}_2^-$  nitrifying oxidizer bacteria.

*Key words: nitrification potential, nitrifying bacteria, litter qualit.*

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Tantangan terbesar dalam kegiatan pertanian saat ini adalah efisiensi pemanfaatan N (*Nitrogen Use Efficiency*), melalui pengurangan kehilangan N dan dampak negatif yang ditimbulkannya (Laegreid *et al.*, 1999). Rendahnya tingkat sinkronisasi antara jumlah dan saat ketersediaan hara N dengan jumlah dan saat dibutuhkan tanaman menurut Van Noordwijk dan De Willigen (1987) menjadi masalah umum yang dijumpai pada tanah-tanah pertanian di daerah tropika basah.

Ketidaksinkronan tersebut menyebabkan N terlindi (*leached*) ke lapisan di bawah jangkauan akar tanaman sehingga mengakibatkan pencemaran nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) pada air tanah dan perairan. Van Noordwijk dan De Willigen (1987) *cit.* Hairiah (2002) mengestimasi sekitar 50% dari pupuk N pada tanah-tanah pertanian di daerah tropika basah hilang terlindi. Aplikasi pupuk N dosis tinggi, aplikasi bahan organik yang mudah terurai dalam jumlah besar dan sistem pertanaman yang mempunyai efisiensi pemanfaatan N rendah juga menjadi penyebab pelindian nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) (Zebarth *et al.*, 1999 *cit.* Purwanto, 2006). Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) yang terbentuk melalui proses mikrobawi ini dikenal sebagai nitrifikasi yang dapat menyebabkan hilangnya N dari tanah maupun N pupuk serta menimbulkan permasalahan lingkungan yang kompleks sehingga perlu upaya pengendalian.

Pelindian N dapat dikurangi dengan meningkatkan sinkronisasi antara ketersediaan hara dalam tanah dengan jumlah dan saat dibutuhkan tanaman. Murphy *et al.* (2003) menyatakan bahwa pemilihan dan pencampuran berbagai jenis kualitas seresah sebelum diaplikasikan ke dalam tanah merupakan cara untuk mengatur saat pembebasan hara selama dekomposisi agar lebih sesuai dengan jumlah dan saat dibutuhkan tanaman dan mengurangi hilangnya hara akibat pelindian. Oleh karena itu, pemberian seresah berkualitas rendah yang mengandung senyawa *allelochemical nitrification inhibitor* dapat diterapkan sebagai alternatif untuk mengatasi masalah tersebut. Kategori senyawa *allelochemical nitrification inhibitor* yang menyebabkan nitrifikasi pada ekosistem klimak (hutan) menjadi relatif

rendah antara lain senyawa tanin, polifenol, galotanin, asam penolic, flavonoid, asam chlorogenat, asam galat, asam cafeic, quercertin dan karanjin (Myrold, 1999 *cit.* Purwanto, 2006).

Tanaman *Curcuma domestica* (kunyit), *Anacardium occidentale* (jambu mete), dan *Manihot esculenta* (ubi karet) adalah tanaman serba guna yang bernilai ekonomis sebab hampir semua bagian tanaman dapat dimanfaatkan mulai dari umbi, buah, batang dan daun. Tanaman-tanaman tersebut juga mengandung senyawa *allelochemical nitrification inhibitor* seperti pada hasil penelitian Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat menyatakan bahwa rimpang kunyit mengandung tanin 20.86%, minyak atsiri kurang lebih 3% dan kurkuminod 10% (Rukmana, 1994), jambu mete yang mengandung senyawa fenolat bernama tanin dengan kadar antara 0,34 - 0,55% (Yan Pieter, 1994) serta pada kulit batang ubi kayu yang mengandung tanin, enzim peroksidase, glikosida dan kalsium oksalat (Anonim, 2007).

Upaya penghambatan nitrifikasi melalui peningkatan keanekaragaman kualitas masukan seresah memang sudah banyak dilakukan. Namun demikian, efek dari tanaman *Curcuma domestica* (kunyit), *Anacardium occidentale* (jambu mete) dan *Manihot esculenta* (ubi karet) terhadap proses nitrifikasi masih perlu diteliti. Mengingat tanaman tersebut merupakan tanaman budidaya yang bernilai ekonomis dan berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai tanaman tumpang sari, tumpang gilir dan mulsa bahan organik. Dengan nilai ekonomis yang dimiliki ketiga seresah ini diharapkan aplikasinya dilapang untuk tujuan jangka panjang penelitian akan mudah diterima oleh petani dan masyarakat luas.

## **B. Perumusan Masalah**

Laju dekomposisi seresah ditentukan oleh kualitasnya yaitu nisbah C/N, (P+L)/N, kandungan lignin dan polifenol. Kualitas seresah akan mempengaruhi laju mineralisasi  $\text{NH}_4^+$  (substrat nitrifikasi) sehingga pengendalian nitrifikasi secara tidak langsung dapat dilakukan melalui pengaturan kualitas masukan seresah. Maka dari itu masalah yang ingin dikaji adalah:

1. Apakah dengan pemberian seresah *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* dapat menghambat potensial nitrifikasi dan populasi bakteri nitrifikasi dalam tanah?
2. Berapa lama waktu inkubasi pemberian seresah *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* yang paling menghambat proses nitrifikasi?
3. Bagaimana kualitas seresah dari tanaman uji tersebut?
4. Kualitas seresah mana yang paling efektif menghambat nitrifikasi?

### **C. Tujuan dan Manfaat Penelitian**

#### **1. Tujuan Penelitian**

- a. Mengkaji pengaruh pemberian kualitas masukan seresah *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* terhadap potensial nitrifikasi dan populasi bakteri nitrifikasi dalam tanah Alfisol Jumantono.
- b. Mengetahui lama waktu inkubasi pemberian kualitas masukan seresah *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* yang paling dapat menghambat proses nitrifikasi.
- c. Mengetahui kualitas seresah yang paling efektif dalam menghambat potensial nitrifikasi tanah Alfisol Jumantono.

#### **2. Manfaat Penelitian**

- a. Memberikan informasi tentang potensi kehilangan N atau menurunnya potensi pemupukan N yang diakibatkan oleh proses nitrifikasi.
- b. Memberikan informasi tentang hubungan kualitas seresah terhadap potensial nitrifikasi dan populasi bakteri nitrifikasi.
- c. Memberikan informasi dan rekomendasi bagi penelitian berikutnya dalam penerapan di lapang dalam kaitannya untuk mendapat cara penghambatan nitrifikasi secara hayati yang mudah, murah dan ramah lingkungan.

## II. LANDASAN TEORI

### A. Tinjauan Pustaka

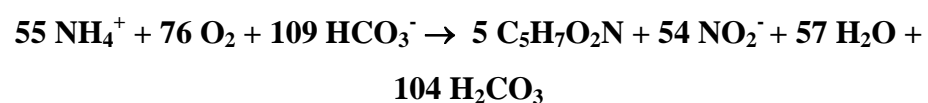
#### 1. Efisiensi Pemupukan Nitrogen

Pupuk nitrogen merupakan jenis pupuk yang paling luas penggunaannya dan dibutuhkan pada hampir seluruh jenis tanah pertanian. Kebutuhan pupuk nitrogen yang semakin meningkat dan harganya yang semakin tinggi merupakan kendala dalam upaya meningkatkan produksi pertanian. Selain itu penggunaan pupuk nitrogen seringkali tidak efisien sehingga sebagian diantaranya hilang tidak termanfaatkan tanaman (Freney *et al.*, 1995). Pupuk nitrogen dapat hilang lewat pelindian (*leaching*), terikut erosi dan aliran permukaan atau hilang teruapkan dalam bentuk gas. Mekanisme utama hilangnya nitrogen pupuk adalah melalui emisi N gas lewat penguapan amonia (NH<sub>3</sub>) dan denitrifikasi (Peoples *et al.*, 1995). Suprayogo (2004) mengestimasi pada tahun 2002 sekitar 3 sampai 65 kg dari aplikasi 90 kg N ha<sup>-1</sup> pupuk urea pada tanaman jagung dan kacang tanah monokultur hilang melalui pelindian NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

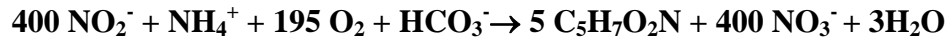
Upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan efisiensi pemupukan nitrogen antara lain melalui *deep placement*, pemberian *urease inhibitor*, pemberian pupuk lepas lambat, penambahan hara kalium, kalsium dan magnesium, kombinasi antara pemupukan dengan *water management* dan pemberian penghambat nitrifikasi (*nitrification inhibitor*) (Stevenson, 1986).

#### 2. Nitrifikasi

Nitrifikasi merupakan proses pengubahan nitrogen amonia secara biologis menjadi nitrogen-nitrat yang berlangsung dalam 2 tahap. Tahap I (nitritasi) yang dikerjakan oleh bakteri *Nitrosomonas* :



Nitrit yang terbentuk akan segera diubah menjadi nitrat oleh bakteri *Nitrobacter*. Reaksi tahap ke II (nitrifikasi) berlangsung sebagai berikut :



Faktor-faktor yang mempengaruhi nitrifikasi meliputi faktor non-antropogenik dan antropogenik. Faktor non-antropogenik meliputi bahan induk tanah, iklim, topografi yang akan mempengaruhi struktur dan komunitas tanaman serta kuantitas dan kualitas bahan organik. Sedangkan faktor antropogenik meliputi pengusikan atau pengelolaan tanaman, pengolahan tanah serta pemberian masukan kepada sistem tanah dan tanaman (Hutchinson, 1995).

Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi nitrifikasi antara lain populasi bakteri nitrifikasi, ketersediaan substrat amonium, pH tanah, konsentrasi kation-kation basa, aerasi dan drainase, kelembaban tanah, garam-garam pupuk serta keberadaan senyawa penghambat nitrifikasi dalam tanah (Bardgett, 2005 *cit.* Puwanto *et al.*, 2007). Kemudian menurut Page *et al.* (2000) bahwa tiga kondisi lingkungan yang paling umum menghambat nitrifikasi adalah anaerobis, kemasaman tanah dan salinitas tanah yang tinggi.

Nitrifikasi merupakan proses yang tidak dikehendaki karena disamping menyebabkan hilangnya N tanah dan N dari pupuk juga menimbulkan masalah lingkungan. Pencemaran  $\text{NO}_3^-$  dapat menyebabkan ledakan pertumbuhan algae dan gulma perairan (*eutrofikasi*), penyakit methemoglobinemia (*blue baby syndrome*) pada bayi dan ternak apabila terminum air yang tercemar  $\text{NO}_3^-$  dan terbentuk nitrosamin yang karsinogenik (Myrold, 1999). Sebagian besar  $\text{NO}_3^-$  di tanah merupakan hasil nitrifikasi dimana tingkat dan besarnya nitrifikasi dapat menjadi penentu pelindian nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) (Follet, 1989 *dalam* Pamungkas, 2005).

### 3. Bakteri Nitrifikasi

Bakteri nitrifikasi meliputi dua kelompok fisiologi yaitu *Nitrosomonas* yang mengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  menjadi  $\text{NO}_2^-$  dan *Nitrobacter*



yang mengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  menjadi  $\text{NO}_3^-$ . Sampai saat ini belum ditemukan kelompok bakteri yang dapat mengoksidasi amonia secara langsung menjadi  $\text{NO}_3^-$  (Bothe *et al.*, 2000). Berdasarkan morfologi selnya bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  diklasifikasikan menjadi lima genera yaitu *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio* dan *Nitrosolobus* (Bothe *et al.*, 2000 *cit.* Purwanto 2004).

Sumber karbon untuk pertumbuhan *Nitrobacter* dapat berupa karbon dioksida, karbonat, bikarbonat atau karbon organik sebagai sumber karbon satu-satunya. Semula *Nitrobacter* diduga bersifat kemoautotrof obligat, namun ternyata *Nitrobacter* dapat menggunakan asetat sebagai sumber karbon dan energi, sehingga lebih tepat disebut “fakultatif autotrof”. Penambahan bahan organik dapat menekan konsentrasi nitrat dalam tanah. namun bukan karena menghambat proses nitrifikasi, melainkan karena terjadinya kompetisi penggunaan amonium dan nitrat oleh mikroba heterotrop pada saat mendekomposisi bahan organik (Myrold, 1999).

#### 4. Senyawa Penghambat Nitrifikasi

Suatu jenis tumbuhan dapat mensekresikan berbagai senyawa organik ke dalam lingkungan tanah. Macam senyawa yang disekresikan perakaran tumbuhan bersifat spesifik, tergantung macam spesies tumbuhan, kondisi pertumbuhan, media perakaran dan umur tumbuhan. Sekresi tersebut dapat berpengaruh sinergis ataupun antagonis terhadap kehidupan biota tanah (Rao, 1994 ; Bolton *et al.*, 1993).

Pohon-pohon yang terdapat di areal hutan yang akan digunakan sebagai tanaman utama, dapat mengeluarkan zat-zat penghambat tumbuh yang dikenal dengan alelopati. Zat-zat penghambat tumbuh yang paling umum adalah senyawa-senyawa aromatik seperti fenol dan laktat, alkaloid tertentu, asam organik dan asam lemak bahkan ion-ion logam berat dapat juga bertindak sebagai penghambat (Addicott dan Lyon, 1969; Abeles, 1972 *dalam* Gordner *et al.*, 1991 *cit.* Purwanto, 2007).

Istilah Alelopati diartikan sebagai efek penghambatan oleh suatu jenis tumbuhan terhadap tumbuhan lain termasuk mikrobial/ biota baik secara langsung maupun tidak langsung lewat pengeluaran senyawa penghambat ke dalam lingkungan. Senyawa yang dikategorikan alelopati meliputi senyawa-senyawa fenolik, kumarin, kuinon, terpen, minyak esensial, alkaloid, tannin, steroid dan flavonoid. Pelepasan senyawa-senyawa alelopati dari suatu tumbuhan ke dalam lingkungan dapat melalui beberapa mekanisme yaitu :

1. Menguapkan zat alelopati yang berupa gas atau essential oil dari permukaan tumbuhan, misalnya pada genera *Artemisia*, *Eucalyptus* dan *Salvia*.
2. Pelindian (*leaching*) daun dan batang oleh air hujan, misalnya pada *Enchelia farinosa*, *Eucalyptus globulus* dan *Rhus copallina*.
3. Pengeluaran (eksudasi) melalui akar, seperti pada *Araucaria cunninghamii*, *Pinus elliottii* dan *Flindersia australis*.
4. Penguraian daun dan jaringan tumbuhan. Pelepasan zat alelopati selama dekomposisi seresah ditunjukkan oleh jenis-jenis *Artemisia absinthium* dan *Rhus glabra* (Rice, 1984).

Upaya petani di negara maju untuk menghambat nitrifikasi antara lain dengan penggunaan pupuk N lepas lambat (*slow release*) (Aarnio dan Martikainen, 1995), atau pupuk N bersama *nitrification inhibitor* seperti Thiourea; Sulfathiazole; 2-Amino-4-chloro-6-methylpyridine; Dyciandiamide; Etridiazole dan N-serve (Nitrapirin) (Blaise *et al.* , 1999; Erickson *et al.*, 2000). Walaupun senyawa sintetik tersebut efektif mengurangi kehilangan N tanah, namun selain harganya yang relatif mahal ternyata juga berdampak negatif terhadap mikroba non-target seperti bakteri penambat N<sub>2</sub> dan mikoriza (Paul dan Clark, 1989). Untuk itu penelitian guna menemukan cara pengendalian nitrifikasi secara hayati yang ramah lingkungan sangat diperlukan. Dari beberapa senyawa tersebut yang sudah dikomersilkan yaitu N-serve (2-kloro-6-(triklorometil)-piridin dan AM (2-amino-4-kloro-6-metil piridin), namun harganya mahal. Kedua senyawa tersebut pada takaran 1,0 ppm

terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Nitrosomonas*, memperlambat nitrifikasi amonium sulfat dan mengurangi hilangnya nitrogen (Rao, 1994). Penghambat nitrifikasi lain yang tengah dikembangkan adalah penggunaan acetylin. Tetapi karena bentuknya gas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Banerje dan Mosier pada tahun 1989 juga telah menggunakan calcium karbida (*acetylen*) yang dilapisi lilin agar dapat lepas lambat (Purwanto *et al.*, 2006). Senyawa tersebut mengurangi nitrifikasi dan dapat meningkatkan produksi tanaman. Dalam penelitian lain juga telah digunakan 2-ethynilpiridin (Freney *et al.*, 1995).

Syarat ideal yang harus dipenuhi oleh senyawa penghambat nitrifikasi komersial adalah tidak meracun terhadap tanaman dan jasad hidup lain, menghambat pengubahan  $\text{NH}_4^+$  menjadi  $\text{NO}_3^-$  melalui penghambatan pertumbuhan dan aktivitas bakteri *Nitrosomonas*, tidak mengganggu proses pengubahan  $\text{NO}_2^-$  oleh bakteri *Nitrobacter*, dapat didistribusikan secara merata bersama-sama pupuk (larutan pupuk), sehingga selalu kontak dengan pupuk N dalam tanah, mempunyai sifat penghambatan yang stabil dan berjangka waktu relatif lama, dan relatif murah (Metting, 1992).

## 5. Dekomposisi dan Kualitas Seresah

Handayanto *et al.*, (1995) menegaskan bahwa kecepatan dekomposisi seresah ditentukan oleh kualitasnya yaitu kandungan karbonat terlarut, asam-asam amino, polifenol aktif, lignin, serta nisbah C/N haranya. Seresah tergolong berkualitas tinggi apabila mempunyai nisbah C/N <25, kandungan lignin <15% dan polifenol <3 sehingga cepat termineralisasi (Palm and Sanchez, 1991). Proses dekomposisi juga dipengaruhi oleh pengelolaan seresah, suhu, kelembaban, aerasi, pH serta kandungan N tanah dan atau seresah. Fox *et al.*, *cit* Handayanto, 1994 *dalam* Purwanto (2007) menegaskan bahwa nisbah (lignin+polifenol)/N merupakan faktor yang lebih erat korelasinya dengan mineralisasi N daripada kandungan polifenol atau nisbah polifenol/N pada seresah.

Polifenol adalah senyawa fenol larut air yang mampu berikatan dengan protein tanaman dan enzim biota pengurai (*decomposers*) (Haslam, *cit.* Handayanto, 1994 *dalam* Purwanto, 2007) sehingga menghambat laju dekomposisi dan mineralisasi seresah (Volks dan Jones *cit.* Handayanto, 1994 *dalam* Purwanto, 2007). Kandungan polifenol total dalam daun tanaman berkisar dari 1 sampai 25% dari bobot kering. Polifenol terbagi dalam dua kelompok yaitu 1).yang berbobot molekul rendah dan 2).Oligomer dan polimer yang berbobot relatif tinggi seperti tanin. Fenol yang berbobot molekul rendah biasa terdapat pada semua tumbuhan tingkat tinggi, sedangkan fenol berbobot molekul tinggi lebih banyak terdapat pada tumbuhan berkayu dan jarang ditemukan pada rumput-rumputan (Bardgett, 2005).

Lignin adalah komponen polimer kayu atau jaringan berkayu yang menempati ruang-ruang antar sel sehingga memperkuat jaringan tanaman akibat terlignifikasi (Scubert *cit.* Handayanto, 1994 *dalam* Purwanto, 2007). Lignin merupakan komponen dinding sel, yang terbentuk dari kondensasi radikal bebas cinnamyl alcohols yaitu *trans*-coniferyl alcohol, *trans*-sinapyl alcohol dan *trans*-*p*-ccoumaryl alcohol (Hagerman dan Butler *cit.* Handayanto, 1994; Myrold, 1999 *dalam* Purwanto, 2007). Kerangka dasar penyusun lignin adalah satuan penylpropen yang terdiri dari sebuah cincin benzena aromatik 6-C (fenol) dan sebuah rantai sisi linier 3-C. Karena ikatan antar strukturnya sangat kuat dan bervariasi maka hanya beberapa genera mikroba yang mampu menguraikan lignin yaitu antara lain jamur akar putih (Basidiomycota) familia Agaricaceae, Hynaceae, Corticiaceae Poliporaceae dan Thelophoraceae, serta beberapa spesies Ascomycote familia Xylariaceae. Kelompok fungi tersebut mampu merombak komponen struktural kayu dan bahan polifenol termasuk lignin melalui produksi enzim fenoloksidase ekstraseluler (Brady dan Weil, 2002; Lavelle dan Spain, 2001).

Masing-masing bahan organik mempunyai kandungan polifenol yang berbeda, demikian pula *trend* kandungan lignin setelah diinkubasikan. Hal ini diduga karena tingkat dekomposisi polifenol dan lignin masing-masing bahan organik berbeda-beda (Efendy, 2005).

Seresah tanaman muda yang lunak akan terdekomposisi lebih cepat karena kandungan gula, asam-asam amino dan N yang lebih tinggi. Nisbah C/N sel mikroba ( $10^{-1}$ ) serta kandungan lignin dan polifenol yang rendah sebaliknya jaringan tanaman tua mempunyai kandungan lignin dan polifenol lebih tinggi namun N yang lebih rendah (Handayanto *et al.*, 1997; Myrold 1999). Handayanto *et al.*, (1999) menambahkan bahwa kandungan lignin lebih menentukan laju dekomposisi seresah daripada nisbah C/N seresah. Oleh karena itu pemilihan serta pencampuran berbagai kualitas seresah sebelum diaplikasikan kedalam tanah dapat diterapkan untuk mengatur saat pembebasan hara selama dekomposisi agar lebih sesuai dengan jumlah dan saat dibutuhkan oleh tanaman (Murphy *et al.*, 2003).

Apabila seresah yang kandungan fenol dan atau ligninnya tinggi digunakan sebagai pupuk hijau maka mineralisasinya terlalu lambat sehingga tidak efektif untuk tanaman semusim. Sebaliknya bagi tanaman tahunan atau pohon hutan, pelepasan N yang lambat tersebut justru menguntungkan dalam jangka panjang karena N hasil mineralisasi akan terhindar dari pelindian dan denitrifikasi (Brady and Weil, 2002).

## **6. Seresah yang Mengandung Senyawa Penghambat Nitrifikasi**

### **a. *Anacardium occidentale* (Jambu mete)**

Jambu mete adalah salah satu sayuran sumber fenol. CNSL (*Cashew Nut Shell Liquid*) segar mengandung sekitar 90% berat asam anakardat, turunan dari O-karboksifenol yang mudah mengalami dikarboksilasi bila dipanaskan dan berubah menjadi anacardol atau cardanol. Sekitar 10% sisanya terdiri dari cardol, resorsinol (m-hidroksi fenol) derivatif dan yang menimbulkan khasiat vesikatif (Cornelius, 1966). Jambu mete yang sudah masak mempunyai bau

khas karena mengandung sekitar 85 % *juice* yang kadar gulanya  $\pm$  10% terutama gula inversi. *Juice* agak astringen karena kandungan tanin (Haendler dan Duvernien, 1970). Lopez (1972) menganalisa buah jambu mete yang berwarna merah dan kuning dari berbagai daerah di Mozambique. Meskipun terdapat keragaman besar diantara buah-buah dari berbagai daerah dan diantara individu buah, namun tidak ada perbedaan nyata antar individu kuning. Keragaman besar tersebut terdapat pada kadar tanin yakni 0,06-0,02 g/100 g.

Rasa sepet pada jambu mete disebabkan oleh senyawa fenolat bernama tanin dengan kadar antara 0,34-0,55%. Kandungan tanin pada buah semu dipengaruhi oleh varietas, iklim, dan tingkat kematangan buah. Selama proses pematangan, kandungan tanin buah semu semakin menurun. Kulit biji mete mengandung minyak laktat antara 20-25%. Cairan ini mengandung kurang lebih 90% asam anacardic dan 10% susunan kardol fenolik yang bersifat sangat keras dan toksik yaitu dapat membuat kulit tubuh bengkak, merah, gatal dan radang kulit (Saragih, 1994).

Biji jambu mete berisi 21% protein dan 35-45% minyak. Minyaknya mengandung 60-74% asam oleat dan 20-28% *asam linoleat*. CNSL (*Cashew Nut Shell Liquid*) nya berisi 90% asam anacardic (*anacardic acid*) dan 10% kardol (*cardyl*). Kandungan kimia di dalamnya adalah senyawa kimia seperti tanin, asam anacardic (*anacardic acid*) dan kardol yang bermanfaat sebagai anti bakteri dan anti septik (Sri Koerniati *et al.*, 1995).

**b. *Manihot esculenta* (Ubi karet)**

Tanaman ini lebih dikenal dengan nama *Manihot utilissima Pohl*. Dari banyak jenis yang ada, terdapat beberapa yang beracun karena kadar HCN (asam sianida) yang tinggi, di mana umbinya sama sekali tidak dapat dipergunakan sebagai makanan. Hanya setelah mengalami perlakuan tertentu dapat dimakan sebagai peuyeum atau tape yang dibuat dengan meragi umbi yang

sebelumnya telah direbus. Jenis ini juga dapat digunakan dalam pembuatan tepung. Daun yang muda dapat dimakan sebagai lalab. Kandungan kimia yang terdapat pada *M.esculenta* adalah HCN (asam sianida). HCN (asam sianida) ini merupakan racun yang dapat menyebabkan perlemakkan di hati. Kadar glukosa dan alkohol dari umbi akar *M.esculenta* jenis SPP (sao pedro petro) lebih besar dari kadar glukosa dan alkohol dari umbi akar jenis biasa. Glukosa ditetapkan kadarnya dengan metode enzimatis 600-PAP. Kadar glukosa untuk *M.esculenta* jenis biasa adalah 8,36 g % 1,11 g %. Untuk jenis SPP (sao pedro petro) kadarnya 17,6 g % 0,43 g %. Kadar etanol ditetapkan dengan metode bobot jenis, kadar alkohol untuk *M.esculenta* jenis biasa 2,24 % v/v 0,31 % v/v dan 2,40 % b/b 0,39 % b/b dan untuk jenis SPP (sao pedro petro) kadar alkoholnya 5,39 % v/v 0,51 % v/v dan 4,27 % b/b 0,375 b/b (Anonim, 2007).

Tumbuhan ini berasal dari Brazilia dengan ketinggian tanaman dapat mencapai 2 meter dan mempunyai rizom atau ubi yang besar, berbentuk silinder yang kaya akan kanji. Bagian yang beracun yaitu rizom (ubi), getah dengan bahan aktif yaitu linamarin yang akan bertukar kepada hidrogen sianida, aseton dan glukos. Hidrogen sianida apabila di makan akan terserap ke dalam aliran darah lalu bergabung dengan hemoglobin di dalam sel darah merah. Keadaan ini menyebabkan oksigen tidak dapat di edarkan di dalam sistem badan. Seterusnya tanda keracunan berikut akan dapat di lihat dari kadar pernafasan meningkat dan kelihatan seperti denyutan nadi meningkat, kekejangan otot, pucat, lemah, rasa loyo, muntah, sakit perut, koma dan bisa menyebabkan kematian (Anonim, 2008).

Dalam setiap 100 gram ubi karet mengandung kalori 146 kal, protein 1,2 gram, lemak 0,3 gram, hidrat arang 34,7 gram, kalsium 33 mg, fosfor 40 mg, zat besi 0,7 mg sedangkan setiap 100 gram daun ubi karet mengandung vitamin C 275 mg, vitamin B1 0,12 mg, kalsium 165 mg, kalori 73 kal, fosfor 54 mg, protein 6,8 gram,

lemak 1,2 gram, hidrat arang 13 gram, zat besi 2 mg dan 87 % bagian daun dapat dimakan. Kulit batangnya mengandung tanin, enzim peroksidase, glikosida dan kalsium oksalat (Anonim, 2007).

**c. *Curcuma domestica* (Kunyit)**

Warna kuning oranye daging rimpang kunyit adalah akibat adanya minyak atsiri *Curcumin oil*. Minyak curcumin merupakan bahan antioksida dan anti bakteri. Kadar minyak ini rata-rata 4-5%. Salah satu jenis minyak curcumin dari luar negeri yang bernama *Allepey* dapat mengandung minyak hingga 6,5 %. Minyak curcumin mengandung 60% “turmerone”. Salah satu komponen lain adalah minyak Zingiberene 25% yang keseluruhannya memberikan bau khas yaitu bau kunyit (Anonim, 2007).

Komponen utama yang terpenting dalam rimpang kunyit adalah “*curcuminoid*” dan *minyak atsiri*. Hasil penelitian Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat menyatakan bahwa kandungan curcumin rimpang kunyit rata-rata 10,92%. Curcuminoid mengandung senyawa curcumin dan turunannya yang mempunyai aktivitas biologis berspektrum luas, diantaranya anti bakteri, anti oksidan dan anti hepatotoksik. Khasiat rimpang kunyit sebagai obat diduga karena kandungan Curcumin. Curcuminod atau zat warna kuning kunyit mengandung tiga komponen yaitu curcumin, desmetoksi curcumin dan bis-des metoksikurkumin. Kadar minyak atsiri pada rimpang kunyit kurang lebih 3% dan curcuminod 10% (Rukmana, 1994).

## **7. Alfisols**

Alfisols adalah tanah yang mengalami pelapukan intensif dan perkembangan yang lanjut, sehingga terjadi pelindian unsur hara, bahan organik dan silika dengan meninggalkan senyawa sesquioksida sebagai sisa yang mempunyai warna merah (Darmawijaya, 1997). Tanah Alfisol mempunyai N total rendah, P tersedia sangat rendah dan K tersedia sedang, maka perlu penambahan unsur tersebut dalam jumlah banyak,



untuk mempertahankan pertumbuhan tanaman yang optimal (Minardi, 2002).

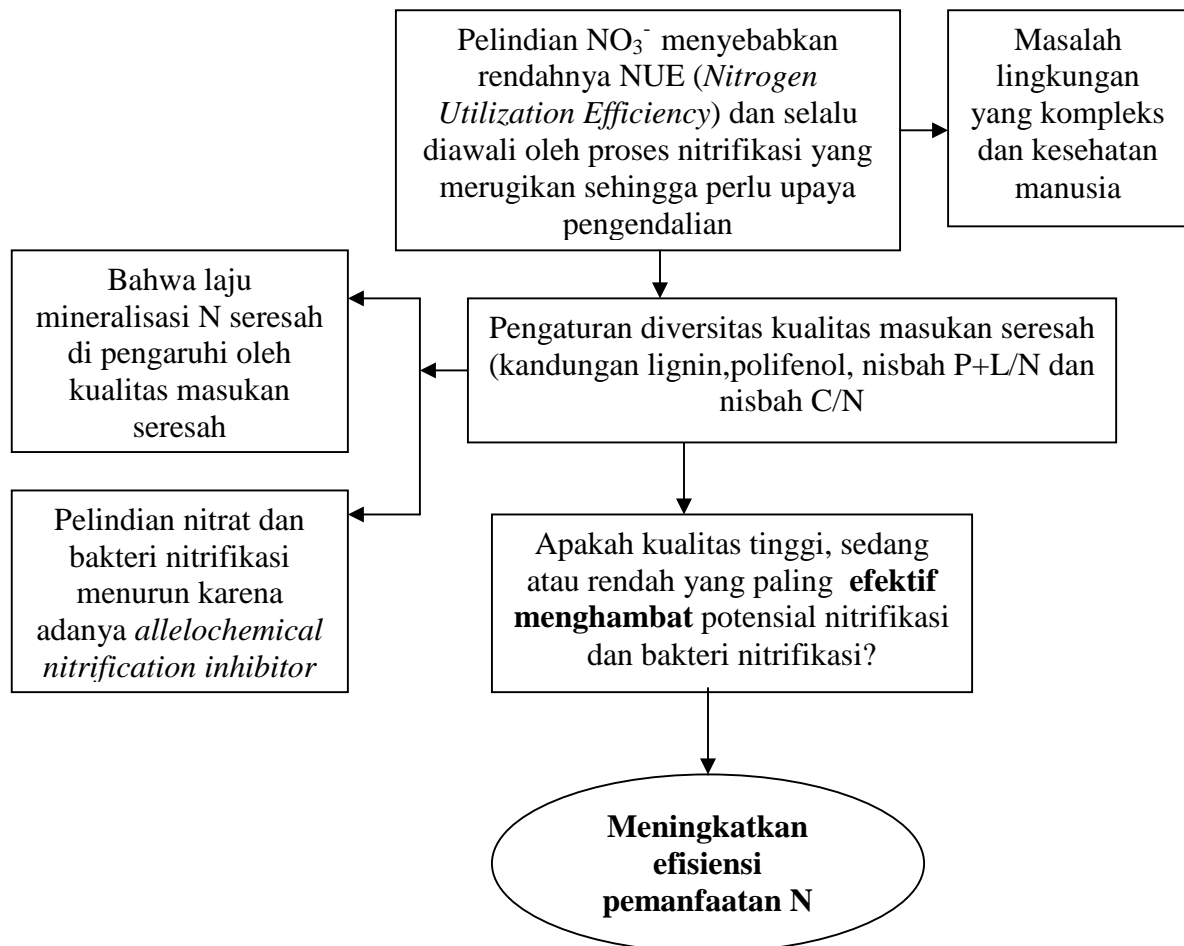
Alfisols mempunyai kapasitas pertukaran kation kecil dibandingkan tanah daerah sedang yang mewakili. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya bahan organik dan sebagian oleh sifat hidrat oksida. Alfisols umumnya sangat kekurangan basa yang dapat dipertukarkan dengan unsur lain sehingga lebih cepat hilang kesuburannya jika tidak dikerjakan dengan usaha pencegahan (Munir, 1996).

## 8. Hasil Penelitian Pendahuluan

Penelitian-penelitian pada ekosistem alami menunjukkan bahwa laju nitrifikasi pada ekosistem klimak (hutan) relatif rendah dan terkendali karena terbentuk *allelochemical nitrification inhibitor* seperti tanin, polifenol, galotanin, asam penolic, flavonoid, asam chlorogenat, asam galat, asam cafeic, quercetin dan karanjin (Myrold, 1999). Senyawa penghambat nitrifikasi (*Nitrosomonas europaea*) pada akar tanaman *Leucaena leucocephala* yaitu *gallocatechin*, *epigallocatechin*, *epicatechin* (Erickson *et al.*, 2000). Penelitian lebih lanjut membuktikan bahwa rendahnya nitrat pada ekosistem klimak tidak semata-mata akibat adanya *allelochemical inhibitor* nitrifikasi namun juga akibat kompetisi imobilisasi ammonium (substrat nitrifikasi) dengan mikroba heterotrof dan asimilasi amonium oleh keragaman sistem perakaran yang ekstensif pada ekosistem alami (Myrold, 1999).

Purwanto dkk (2006) membuktikan dalam penelitiannya di Sumberjaya, Lampung bahwa semakin rendah masukan seresah dan semakin intensif pengelolaan lahan pertanian, akan semakin meningkatkan nitrifikasi potensial sekitar 2 hingga 4 kali lipat bila dibandingkan dengan tanah hutan alami ( $1.76 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ ).

## B. Kerangka Berpikir



### C. Hipotesis Penelitian

1. Pemberian kualitas masukan seresah (kandungan lignin, polifenol, nisbah C/N dan nisbah (P+L)/N) dari *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* dapat menurunkan populasi bakteri nitrifikasi dan potensial nitrifikasi tanah Alfisol Jumantono.
2. Waktu inkubasi berpengaruh nyata terhadap populasi mikrobial heterotrof dan populasi bakteri nitrifikasi dalam proses penghambatan nitrifikasi.
3. Seresah berkualitas rendah paling efektif dalam menghambat potensial nitrifikasi dan populasi bakteri nitrifikasi tanah Alfisol Jumantono.

## III. METODOLOGI PENELITIAN

### A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai Agustus 2007 di Laboratorium Kimia dan Kesuburan Tanah, Laboratorium Biologi Tanah, dan rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

### B. Bahan dan Alat

#### 1. Bahan

Tanah Alfisol Jumantono, khemikalia untuk analisis laboratorium dan seresah. Sebelum memilih seresah yang akan diuji, dilakukan survei dan pemilihan tanaman yang umum dijumpai di Jumantono menggunakan kriteria yaitu: a). bernilai ekonomi tinggi, b). berpotensi besar untuk dikembangkan, karena mampu tumbuh cepat dan menghasilkan biomassa tinggi c). mengandung senyawa penghambat nitrifikasi. Dari ke 3 spesies tanaman yang terpilih tersebut, dipilih berdasarkan variasi kandungan kualitas seresah (lignin, polifenol, nisbah (P+L)/N dan nisbah C/N-nya)

yaitu jambu mete (*Anacardium occidentale*), ubi karet (*Manihot esculenta*) dan kunyit (*Curcuma domestica*).

## 2. Alat

Spektrofotometer, pH meter, oven listrik, sheker, refrigerator, kjehldahl apparatus, neraca analitik, gelas arloji, autoclave, *Petrof Hauser Bacteria Counter*, mikroskop, spatel plastik, ember plastik, kantong plastik, petridish, pipet ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, dan pot tanah. Pemilihan pot tanah diasumsikan agar mendekati keadaan sebenarnya di lapang.

## C. Perancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian hubungan fungsional yang pendekatan variabelnya melalui suatu eksperimen. Pengambilan sampel tanah dengan menggunakan metode *Non Destuktif Soil Sampling*. Rancangan dasar menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari dua faktor yaitu macam sumber seresah yang mengandung senyawa alelopat (4 macam) dan lama waktu inkubasi (5 macam).

Faktor I (macam seresah) :

A<sub>0</sub> = Kontrol (Tanpa seresah)

A<sub>1</sub> = dengan seresah *Manihot esculenta*

A<sub>2</sub> = dengan seresah *Curcuma domestica*

A<sub>3</sub> = dengan seresah *Anacardium occidentale*

Faktor II (lama waktu inkubasi) :

I<sub>0</sub> = inkubasi hari ke-0

I<sub>1</sub> = inkubasi hari ke-5

I<sub>2</sub> = inkubasi hari ke-10

I<sub>3</sub> = inkubasi hari ke-15

I<sub>4</sub> = inkubasi hari ke-20

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan Pada Berbagai Waktu Inkubasi

Lama Waktu Inkubasi	JENIS PERLAKUAN			
	A <sub>0</sub> Kontrol	A <sub>1</sub> <i>Manihot esculenta</i>	A <sub>2</sub> <i>Curcuma domestica</i>	A <sub>3</sub> <i>Anacardium occidentale</i>
I <sub>1</sub> (0 hari)	A <sub>0</sub> I <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> I <sub>1</sub>	A <sub>2</sub> I <sub>1</sub>	A <sub>3</sub> I <sub>1</sub>
I <sub>2</sub> (5 hari)	A <sub>0</sub> I <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> I <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> I <sub>2</sub>	A <sub>3</sub> I <sub>2</sub>
I <sub>3</sub> (10 hari)	A <sub>0</sub> I <sub>3</sub>	A <sub>1</sub> I <sub>3</sub>	A <sub>2</sub> I <sub>3</sub>	A <sub>3</sub> I <sub>3</sub>
I <sub>4</sub> (15 hari)	A <sub>0</sub> I <sub>4</sub>	A <sub>1</sub> I <sub>4</sub>	A <sub>2</sub> I <sub>4</sub>	A <sub>3</sub> I <sub>4</sub>

I <sub>5</sub> (20 hari)	A <sub>0</sub> I <sub>5</sub>	A <sub>1</sub> I <sub>5</sub>	A <sub>2</sub> I <sub>5</sub>	A <sub>3</sub> I <sub>5</sub>
--------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------	-------------------------------

#### D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Jenis seresah dan lama waktu inkubasi.
2. Variabel terikat utama: Populasi dan aktifitas bakteri nitrifikasi, populasi mikrobial heterotrof (*Actinomycetes*, fungi dan bakteri) dalam tanah dan potensial nitrifikasi dari bakteri nitrifikasi dalam tanah.
3. Variabel terikat pendukung :
  - a. pH H<sub>2</sub>O dengan metode 1: 2,5 (tanah : H<sub>2</sub>O).
  - b. C-organik dengan metode Walkley and Black .
  - c. N-total dengan metode Kjeldahl.
  - d. Suhu dengan pengukuran thermometer.
  - e. Kelembaban dengan pengukuran Soil Moisture Tester.

#### E. Tata Laksana Penelitian

1. Tahap Persiapan
  - a. Pengambilan sampel tanah  
 Penentuan sampel tanah dilakukan secara sengaja (*purposive*) diambil dari Kebun Percobaan Jumantono Fakultas Pertanian UNS dengan penentuan luasan pengambilan dilaksanakan secara acak sederhana sebanyak 12 titik sampel dari kedalaman 0-20 cm sebab pada kedalaman tersebut merupakan kedalaman efektif perakaran suatu tanaman, kemudian tanah dikomposit dan dikeringanginkan.
  - b. Persiapan media tanah  
 Tanah yang telah dikeringanginkan disaring dengan diameter saringan 2 mm. Sebanyak 60 pot tanah kemudian diisi masing-masing 0,8 kg tanah dengan ukuran pot yaitu 21.5 cm x 13.5 cm.
  - c. Persiapan bahan organik  
 Seresah pangkasan segar (bagian daun) dikering anginkan, diambil contohnya kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C sampai beratnya konstan untuk mengestimasi jumlah seresah (setara berat kering oven) yang akan ditambahkan kemudian dihaluskan dan disaring dengan diameter saringan sebesar 0,5 mm (Purwanto *et al.*, 2006).

d. Pencampuran bahan organik

Seresah yang sudah halus dengan berat kering oven 2,25 g per 0,8 kg tanah kemudian ditambahkan ke dalam pot tanah sesuai perlakuan, dibenamkan dan dicampur merata dengan 0,8 kg tanah.

e. Penambahan substrat nitrifikasi

Substrat nitrifikasi diberikan dalam bentuk larutan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dengan dosis masing-masing 200 kg ha<sup>-1</sup> atau setara 0,072 g per pot, diberikan bersama dengan pemberian seresah halus (kecuali pada perlakuan tanpa pupuk). Penambahan substrat nitrifikasi dilakukan 5 hari setelah aplikasi seresah lalu tanah diaduk sehingga homogen (Rosmarkam dan Yuwono, 2001). Tanah dan seresah akan diinkubasi sesuai dengan perlakuan.

## F. Pemeliharaan

Inkubasi dilakukan pada rumah kaca. Untuk pemeliharaan dilakukan setiap hari dengan menjaga kadar air pada kapasitas lapangan. Caranya dengan menambahkan air sebanyak yang dibutuhkan tanah per pot untuk mencapai kapasitas lapangan.

f. Pengambilan sampel tanah

Sampel tanah diambil dengan cara diaduk agar homogen sesuai perlakuan pada masing-masing pot tanah dengan menggunakan spatel plastik dan secara aseptik. Pengambilan sampel tanah menggunakan metode *Non Destuktif Soil Sampling*, yaitu pada pot yang sudah diambil sampel tanahnya, tidak digunakan lagi. Sampel tanah untuk inkubasi ke-0 dipanen pada hari ke-0, inkubasi ke-5 dipanen pada hari ke-5, inkubasi ke-10 dipanen pada hari ke-10, inkubasi ke-15 dipanen pada hari ke-15, dan inkubasi ke-20 dipanen pada hari ke-20. Perlakuan tanah setelah pengambilan sampel yaitu tanah dibungkus dengan plastik sesuai dengan perlakuan dan ditali dengan karet dari rumah kaca tempat inkubasi berlangsung.

## 2. Analisis Laboratorium

Analisis laboratorium untuk analisis mikroorganisme, yaitu dengan cara tanah yang telah diambil dari rumah kaca dalam kantong plastik langsung

dianalisis pada hari yang sama dengan hari pengambilan sampel tanah. Sedangkan untuk analisis kimianya, tanah disimpan dahulu dalam lemari pendingin dan dianalisis hari berikutnya.

a. Analisis kualitas seresah tumbuhan

1. Kadar phenol dengan metoda Kermasha (Kermasha *et al.*, 1995) melalui ekstraksi dengan etil asetat dan dianalisis dengan HPLC, elusi gradien, econosil C-18 (kolom), detector UV and EC.
2. Kadar lignin, selulosa dan abu seresah/jaringan tanaman ditetapkan dengan metoda *Acid detergent fiber* (Goering dan Van Soest, 1970 *cit.* Purwanto, 2006).

**G. Metode pendekatan analisis :**

- a. Bakteri nitrifikasi bersifat *khemoautotrof*, maka untuk penghitungan jumlahnya digunakan medium hara mineral murni (tidak boleh sedikitpun tercemar senyawa organik) yang diperkaya dengan  $\text{NH}_4^+$  sebagai sumber energi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  dan nitrit  $\text{NO}_2^-$  sebagai sumber energi bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$ . Masing-masing medium tersebut kemudian diinokulasi dengan satu seri pengenceran tanah dan selanjutnya diinkubasikan selama 35 hari. Setelah masa inkubasi, adanya pertumbuhan bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  ditandai dengan perubahan warna medium dari biru menjadi biru kehijauan dan selanjutnya kuning sampai tidak berwarna akibat pengasaman media. Pertumbuhan bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  ditandai dengan uji negatif keberadaan  $\text{NO}_2^-$  dalam medium. Dari kriteria tersebut kemudian dihitung jumlah perkiraan terdekat (*Most Probable Number*=MPN) nya menggunakan tabel MPN Hoskins (Schinner *et al.*, 1995).

b. Potensial Nitrifikasi

Nitrifikasi potensial tanah diukur menggunakan metode Berg dan Rosswald (Kandeler, 1995), yaitu mengukur laju proses oksidasi  $\text{NH}_4^+$  menjadi  $\text{NO}_2^-$  (aktivitas bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$ ) dari contoh tanah per satuan waktu tertentu. Contoh tanah

ditambah amonium sulfat sebagai substrat nitrifikasi lalu diinkubasi selama 5 jam pada suhu kamar. Nitrit yang terbentuk selama inkubasi diekstrak dengan KCl 2 M ditentukan secara kalorimetrik pada panjang gelombang 520 nm. Oksidasi  $\text{NO}_2^-$  menjadi  $\text{NO}_3^-$  (aktivitas bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$ ) selama inkubasi dihambat dengan penambahan  $\text{NaClO}_3$ .

- c. Populasi bakteri heterotrof, populasi fungi, dan populasi *Actinomycetes*.

Populasi mikrobial heterotrof dihitung dengan metode hitungan cawan (*plate count*) yaitu dengan menginokulasi medium dengan satu seri pengenceran suspensi tanah ( $10^{-3}$ – $10^{-6}$ ). Medium yang digunakan meliputi *Nutrient Agar* (NA) untuk bakteri, *Potato Dextrosa Agar* (PDA) untuk fungi dan *Actinomycetes Isolation Agar* (AIA) untuk *Actinomycetes*. Jumlah koloni dihitung setelah diinkubasi selama 2x24 jam (Rao, 1999).

## E. Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan uji F 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, data penghitungan dan pengukuran jumlah populasi bakteri nitrifikasi diuji dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5% sedangkan untuk mengetahui hubungan antar variabel menggunakan analisis uji korelasi. Analisis data dilakukan dengan mengaplikasikan software Minitab14, Excel dan SPSS 11.0.



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Karakteristik Tanah Alfisol

Tabel 2. Hasil Analisis Tanah

NO	SIFAT TANAH	HASIL	PENGHARKATAN
1	pH H <sub>2</sub> O	5.5	Masam *)
2	BO	48 g kg <sup>-1</sup>	Rendah **)
3	KPK	24.28 cmol <sup>(+)</sup> kg <sup>-1</sup>	Sedang *)
4	KB	36 %	Sedang *)
5	C-organik	28.1 g kg <sup>-1</sup>	Sedang *)
6	N-total	2.8 g kg <sup>-1</sup>	Sedang *)
7	C/N	10.03	Rendah *)

Sumber : Hasil Analisis Laboratorium Ilmu Tanah FP UNS Juni, 2007

Keterangan : \*) Pengharkatan menurut Pusat Penelitian Tanah dalam Harjowigeno, 1983

\*\*) Pengharkatan menurut Sumaryo, 1982

Berdasarkan Tabel 2 diatas terlihat tanah Alfisol Jumantono mempunyai pH 5.5 karena tanah ini telah mengalami pencucian karbonat dan braunifikasi yang merupakan prasyarat untuk pembentukan Alfisols. Adanya pencucian karbonat inilah yang menyebabkan tanah menjadi masam (Munir, 1996).

Pada pengukuran KPK tanah Alfisol Jumantono didapatkan nilai sebesar 24.28 cmol<sup>(+)</sup> kg<sup>-1</sup> yang tergolong sedang. Kejenuhan basa merupakan sifat yang berhubungan dengan kapasitas tukar kation dan pH tanah (Tan, 1991). Kejenuhan basa tanah ini 36% yang berarti 74% adalah kation Al<sub>3</sub><sup>+</sup> dan H<sup>+</sup> atau 9/25 bagian dari seluruh kapasitas tukar kation ditempati oleh kation basa (Ca, Mg, K, Na) dan kation Al<sub>3</sub><sup>+</sup> dan H<sup>+</sup> merupakan kation yang dominan terjerap, sedangkan kation lainnya kurang berarti sehingga pHnya rendah. (Hakim *et al.*, 1986).

Kandungan bahan organik dengan kriteria rendah (48 g kg<sup>-1</sup>) karena tanah ini terdapat di daerah yang berbelerang tinggi sehingga bahan organik akan mudah terlindi dan telah mengalami pelapukan intensif serta perkembangan yang lanjut, sehingga terjadi pelindian unsur hara (Darmawijaya, 1997). Kandungan bahan organik yang rendah pada tanah ini berhubungan dengan nisbah C/N yang rendah. Kandungan N tanah ini

sedang ( $2.8 \text{ g kg}^{-1}$ ) dan C-organiknya tinggi sehingga nisbah C/N nya tergolong sedang (10.03).

Adanya kisaran status kesuburan yang beragam dari tanah tersebut maka macam pupuk dan aplikasi seresah dengan berbagai kualitas dapat dijadikan rekomendasi guna meningkatkan kandungan hara dalam tanah sekaligus sebagai penghambatan nitrifikasi secara hayati. Dengan demikian, akan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tanah tergantung dari kualitas seresah tersebut.

## B. Analisa Kualitas Seresah

Tabel 3. Hasil Analisis Kualitas Seresah

No	Seresah	Kadar Kualitas Seresah Tanaman				
		Polifenol (%)	Lignin (%)	Selulosa (%)	C/N	(L+P)/N
1	<i>Anacardium occidentale</i> *	16.44	27.28	22.46	25.56	24.50
2	<i>Curcuma domestica</i> **	2.53	11.18	20.86	22	19.87
3	<i>Manihot esculenta</i> ***	4.75	15.92	12.02	18.17	17.42

Sumber : Hasil Analisis Laboratorium FP UNIBRAW, Agustus 2007

Keterangan: Pengharkatan menurut Palm dan Sanchez, 1991 *cit.* Hairiah *et al.*, 2005; Handayanto *et al.*, 1999 dan Purwanto, 2006.

\* : seresah berkualitas rendah

\*\* : seresah berkualitas sedang

\*\*\* : seresah berkualitas tinggi

Dari tabel 3 menunjukkan kualitas seresah dari tanaman yang diuji dengan parameter kandungan polifenol, lignin, nisbah C/N dan (Polifenol+Lignin)/N seresah terbukti sangat bervariasi. Secara umum, seresah *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* berkualitas tinggi sedangkan *Anacardium occidentale* berkualitas rendah karena menurut Palm dan Sanchez, 1991 *cit.* Hairiah *et al.*, (2005) seresah berkualitas tinggi ditunjukkan oleh nisbah C/N <25, kandungan lignin <15% dan polifenol <3% sehingga cepat melapuk. Namun, dalam kaitannya dengan nitrifikasi, Handayanto (1999) dan Purwanto (2006) menyimpulkan bahwa faktor kualitas seresah yang paling berpengaruh terhadap pembebasan  $\text{NH}_4^+$  dan pembentukan  $\text{NO}_3^-$  (nitrifikasi) tanah yang mengalami pelindian di Kecamatan Sumberjaya, Lampung Barat adalah nisbah (polifenol+lignin)/N seresah daripada kandungan lignin, polifenol atau nisbah C/N seresah secara terpisah. Berdasarkan pernyataan tersebut maka jika dilihat dari nisbah

(P+L)/N nya seresah *Manihot esculenta* tergolong berkualitas tinggi, *Curcuma domestica* berkualitas sedang dan *Anacardium occidentale* berkualitas rendah.

Kualitas seresah akan berpengaruh terhadap substrat nitrifikasi sehingga pengendalian nitrifikasi dapat dilakukan melalui pengaturan kualitas masukan seresah. Menurut Murphy *et al.*, (2003) pemilihan dan pencampuran berbagai jenis kualitas seresah sebelum diaplikasikan ke tanah dapat digunakan sebagai dasar pemilihan seresah yang sesuai untuk mengatur saat pembebasan hara selama dekomposisi. Hilangnya hara akibat pelindian melalui proses nitrifikasi menjadi berkurang sehingga lebih sesuai dengan jumlah dan saat dibutuhkan oleh tanaman.

### C. Peran Kualitas Seresah Terhadap Potensial Nitrifikasi

Potensial nitrifikasi menggambarkan aktivitas bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  dalam mengoksidasi substrat  $\text{NH}_4^+$  menjadi  $\text{NO}_2^-$  per satuan waktu tertentu (5 jam inkubasi dalam *rotatory shaker*) dan pada kondisi terkontrol (penambahan substrat  $\text{NH}_4^+$  dalam konsentrasi tertentu) (Kandeler *et al.*, 1995). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian seresah tanaman berpengaruh terhadap potensial nitrifikasi.

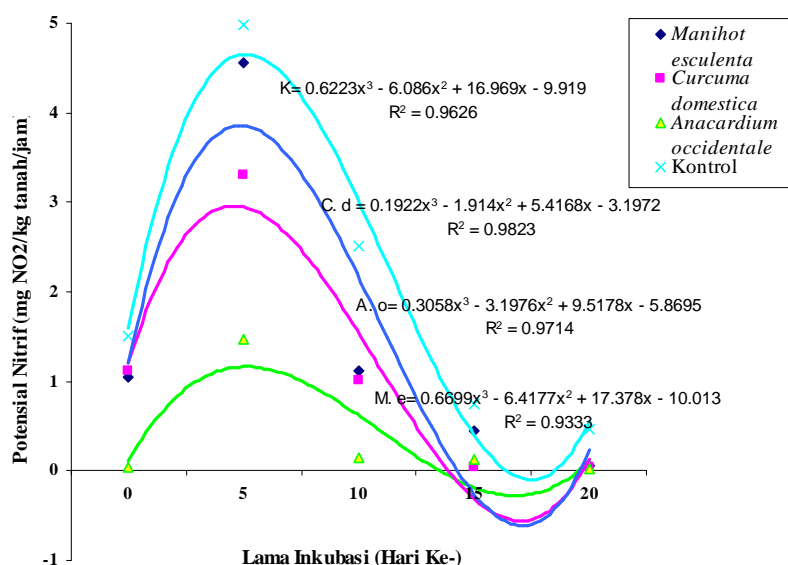
Tabel 4. Hasil Analisis Keragaman Pengaruh Pemberian Seresah Terhadap Potensial Nitrifikasi

Sumber Keragaman	F hitung	P-value
Seresah	183.14	0.000**
Lama waktu inkubasi	4845.76	0.000**
Seresah* lama waktu inkubasi	343.43	0.000**

**Keterangan:** \*\*: berpengaruh sangat nyata; \*: berpengaruh nyata; ns: tidak berpengaruh nyata.

Analisis sidik ragam (Tabel 4) menunjukkan ada interaksi yang sangat nyata ( $P\text{-value} < 0.01$ ) antara perlakuan jenis seresah dan waktu inkubasi terhadap potensial nitrifikasi. Interaksi tersebut memperlihatkan waktu inkubasi mempengaruhi proses dekomposisi seresah. Handayanto *et al.*, (1995) menyatakan proses dekomposisi seresah ditentukan oleh kualitasnya yaitu kandungan karbonat terlarut, asam-asam amino, polifenol aktif, lignin,

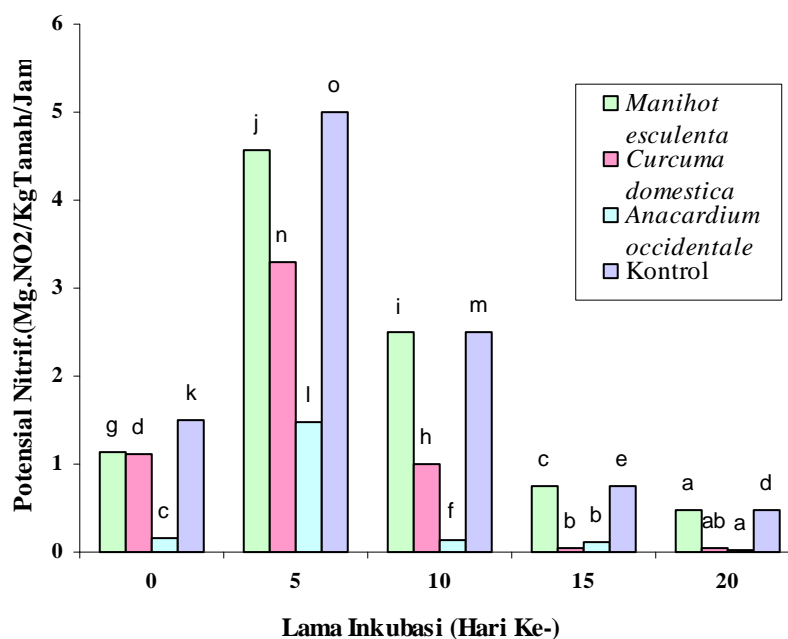
dan nisbah C/N haranya. Kemudian Purwanto (2007) menambahkan bahwa seresah berkualitas tinggi akan cepat terdekomposisi bersamaan dengan asimilasi  $\text{NH}_4^+$  untuk membentuk biomassa mikrobial baru sehingga tidak menyisakan sumber energi bagi bakteri nitrifikasi. Walaupun ketiga seresah yang diuji berbeda kualitasnya, namun mempunyai pola peningkatan dan penurunan potensial nitrifikasi yang sama tetapi nilainya berbeda-beda (Gambar 2).



Gambar 2. Grafik pola potensial nitrifikasi oleh pemberian seresah pada berbagai waktu inkubasi

Nilai potensial nitrifikasi pada perlakuan kontrol setiap waktu inkubasi paling tinggi. Sebaliknya pada perlakuan ketiga seresah meningkat pada hari ke-5 dan mulai dapat dihambat oleh ketiga seresah pada hari ke-10 dengan puncak nilai terendah di hari ke-20 (akhir inkubasi). Selama 20 hari inkubasi, pemberian seresah *Manihot esculenta* menghasilkan rerata potensial nitrifikasi tertinggi ( $1.5 \text{ mg NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ ) diikuti *Curcuma domestica* ( $1,1 \text{ mg NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ ) sedangkan *Anacardium occidentale* menghasilkan rerata potensial nitrifikasi terendah ( $0.36 \text{ mg NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ ). Dari hasil uji DMR 5% menunjukkan perbedaan yang nyata antar pemberian seresah. Gambar 3 menunjukkan bahwa potensial nitrifikasi mulai dapat dihambat pada inkubasi hari ke-10 dan didapatkan nilai potensial nitrifikasi yang terkecil saat

inkubasi hari ke-20. Pada waktu inkubasi hari ke-5, potensial nitrifikasinya paling tinggi pada semua perlakuan seresah tanaman bila dibandingkan dengan inkubasi lainnya. Hal ini dikarenakan sebagian besar  $\text{NH}_4^+$  dari pupuk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  pada kontrol akan dimanfaatkan sebagai substrat nitrifikasi sehingga potensial nitrifikasinya tertinggi dibanding perlakuan penambahan seresah.

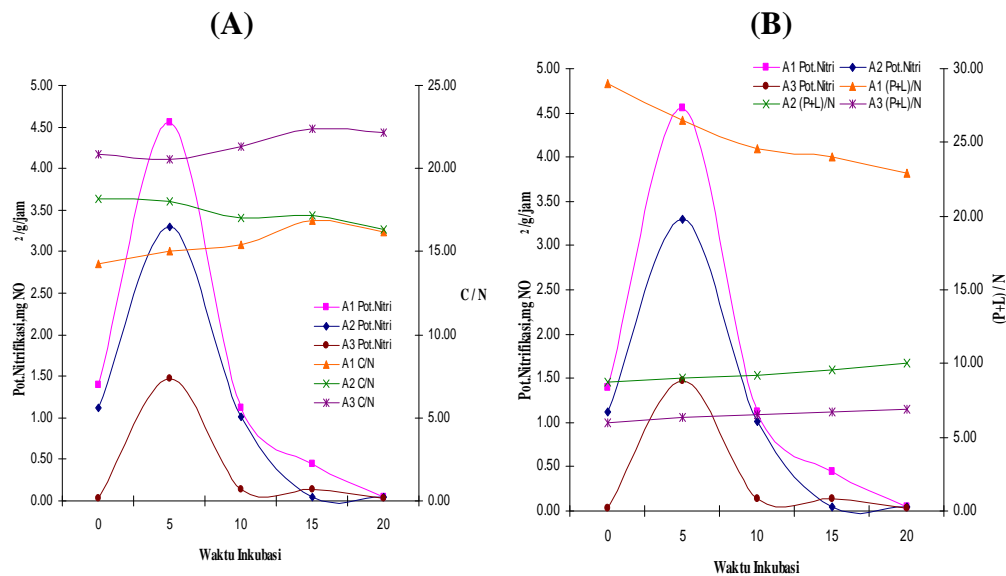


Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji DMR 5%

Gambar 3. Histogram potensial nitrifikasi pada berbagai pemberian seresah tanaman.

Selanjutnya berdasarkan uji korelasi menunjukkan bahwa nisbah  $(\text{P}+\text{L})/\text{N}$ , lignin, nisbah  $\text{C}/\text{N}$  dan polifenol berkorelasi negatif terhadap potensial nitrifikasi yang berarti kenaikan nisbah  $(\text{P}+\text{L})/\text{N}$ , lignin, nisbah  $\text{C}/\text{N}$  dan polifenol seresah akan diikuti penurunan potensial nitrifikasi. Dari hasil uji korelasi ini terlihat bahwa nisbah  $(\text{P}+\text{L})/\text{N}$  mempunyai hubungan yang paling erat dengan potensial nitrifikasi ( $r=-0.274$ ) kemudian diikuti lignin, nisbah  $\text{C}/\text{N}$  dan polifenol secara terpisah (Lampiran 8). Wagner dan Wolf (1999) dalam Purwanto (2007) menyatakan bahwa kondisi yang dapat mempercepat dekomposisi seresah yaitu a). seresah berukuran kecil dan kandungan ligninnya rendah, b). seresah bernisbah  $\text{C}/\text{N}$  rendah, c). tanah ber-

pH sekitar netral yang memungkinkan aktifnya beragam jenis mikrobia pendekomposisi, d).kelembaban dan aerasi cukup, dan e).suhu antara 30-45<sup>0</sup>C.



Gambar 4. Hubungan nisbah C/N (A) dan (P+L)/N (B) terhadap potensial nitrifikasi pada berbagai waktu inkubasi (Keterangan: A<sub>1</sub>: *Manihot esculenta*; A<sub>2</sub>: *Curcuma domestica*; A<sub>3</sub>: *Anacardium occidentale*)

Pola peningkatan dan penurunan nitrifikasi yang sama bukan berarti kecepatan dekomposisinya juga sama karena kondisi dan kualitas seresah yang berbeda-beda. Handayanto *et al.*, (1995) cit Purwanto (2007) menegaskan semakin tinggi kandungan lignin seresah akan semakin lemah pengaruh nisbah C/N atau kandungan N seresah terhadap laju dekomposisi. Oleh karena itu seresah *Anacardium occidentale* terdekomposisi paling kecil sebab kandungan ligninnya paling tinggi dan penurunan nisbah C/N nya paling kecil (0.82%) yaitu dari 22.34 menjadi 22.14 (Lampiran 1). Sedangkan seresah *Manihot esculenta* yang berkualitas tinggi akan terdekomposisi lebih cepat oleh mikrobia pendekomposisi karena kandungan lignin, polifenol dan penurunan nisbah C/N nya paling tinggi (17.81%) sehingga menghasilkan rerata potensial nitrifikasi tertinggi.

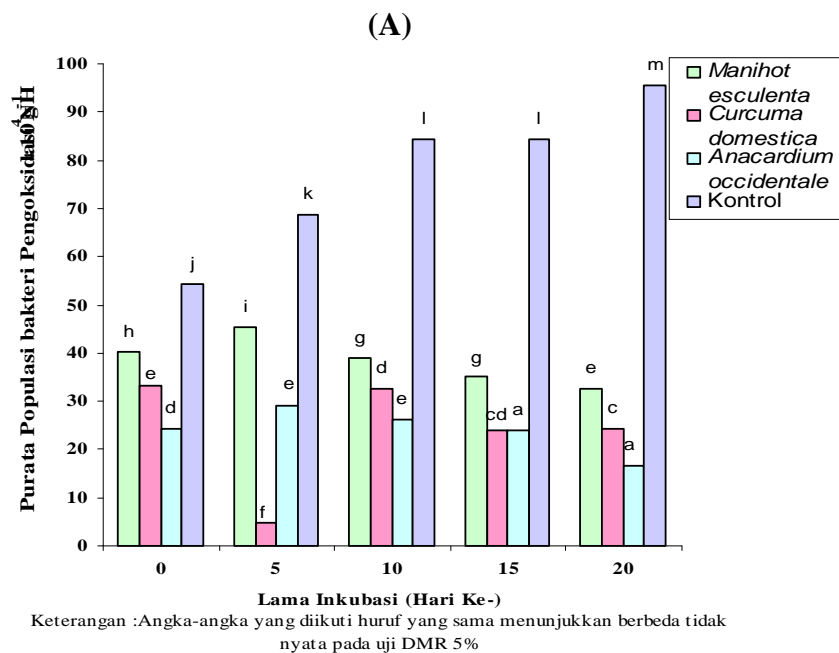
Terkait dengan proses dekomposisi dan kualitas seresah yang dapat mempengaruhi potensial nitrifikasi tanah, Purwanto (2006) menyatakan

bahwa studi mineralisasi N dari seresah berkualitas rendah dan dalam takaran tinggi memerlukan waktu pengamatan yang lebih lama (disarankan agar lama inkubasi diperpanjang sampai lebih 18 minggu). Semakin rendah nisbah (P+L)/N, kandungan lignin, nisbah C/N dan polifenol seresah akan semakin cepat proses dekomposisi dalam tanah sehingga nitrifikasi meningkat. Sebaliknya, semakin tinggi nisbah (P+L)/N, kandungan lignin dan polifenol seresah akan semakin lambat proses nitrifikasi dalam tanah.

#### D. Hubungan Kualitas Seresah Terhadap Mikrobia Tanah

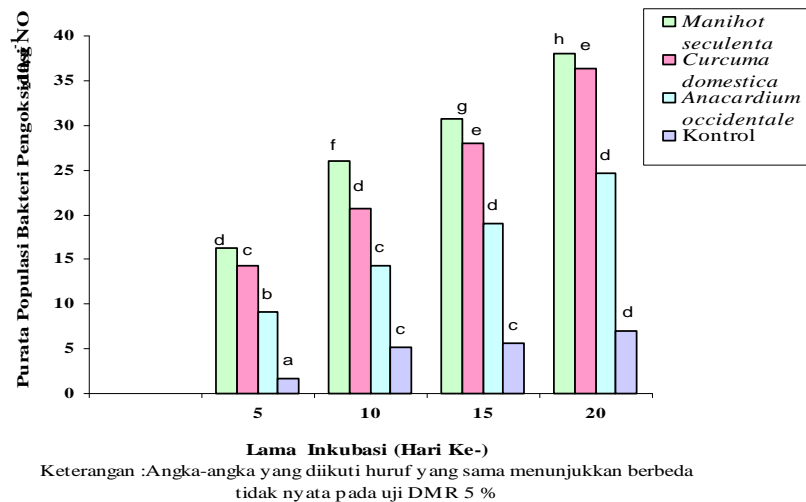
##### 1. Mikrobia autotrof (Bakteri Nitrifikasi)

Hasil uji F memperlihatkan ada interaksi sangat nyata antara pemberian seresah dan lamanya inkubasi terhadap populasi bakteri nitrifikasi maupun mikrobia heterotrof ( $P=0.000$ ).



Gambar 5A. Histogram bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  antar perlakuan seresah.

(B)



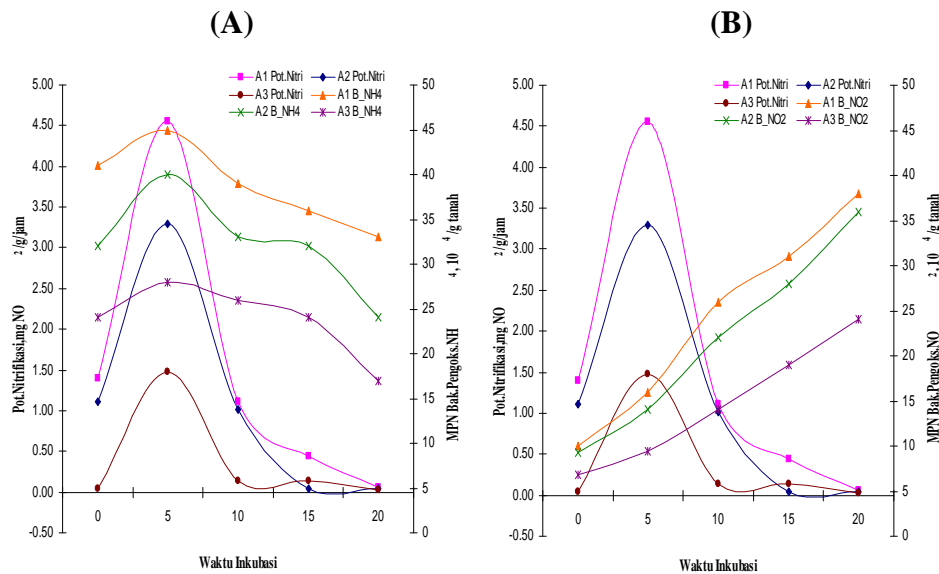
Gambar 5B. Histogram bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  antar perlakuan seresah.

Dari uji DMR taraf 5% menunjukkan perbedaan yang nyata pada populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  dan populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  antar perlakuan seresah. Gambar 4A menunjukkan populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  pada kontrol selalu lebih tinggi dari semua perlakuan seresah pada setiap waktu inkubasi. Tingginya populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  pada kontrol ini diduga karena pada kontrol tersedia  $\text{NH}_4^+$  dari pupuk yang berlebihan (karena tidak berlangsung imobilisasi oleh mikroba heterotrof) yang berakibat meracuni terhadap bakteri bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$ . Oleh karena itu populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  pada kontrol selalu lebih rendah dari semua perlakuan seresah pada setiap waktu inkubasi (Gambar 5B).

Hasil pengamatan menunjukkan terjadi peningkatan potensial nitrifikasi pada hari ke 5 untuk semua perlakuan. Populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  maupun bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  dalam tanah sangat bervariasi antar perlakuan seresah sejalan dengan makin lamanya waktu inkubasi sehingga berpengaruh terhadap potensial nitrifikasi. Potensial nitrifikasi tertinggi pada perlakuan kontrol (tanpa pemberian seresah). Hal ini karena pada hari ke 5 populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  tinggi sehingga  $\text{NH}_4^+$  dari pemberian pupuk tersebut akan



dioksidasi sehingga dengan banyaknya populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  potensial nitrifikasinya juga tinggi (Gambar 6).



Gambar 6. Hubungan potensi nitrifikasi dengan bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  (A) dan bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  (B) pada berbagai waktu inkubasi. (Keterangan: A<sub>1</sub>: *Manihot esculenta*; A<sub>2</sub>: *Curcuma domestica*; A<sub>3</sub>: *Anacardium occidentale*).

Rerata populasi (jumlah perkiraan terdekat /MPN) bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  tertinggi pada seluruh perlakuan terdapat pada hari ke 5 dan kemudian menurun sampai hari ke 20, sedangkan secara keseluruhan rerata populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  terendah pada hari pertama dengan nilai terendah pada seresah *Anacardium occidentale* ( $6.10^4 \text{ g}^{-1}$  tanah) yang berkualitas rendah, kemudian meningkat sampai puncaknya pada hari ke 20 terjadi pada seresah *Manihot esculenta* ( $38.10^4 \text{ g}^{-1}$  tanah) yang berkualitas tinggi.

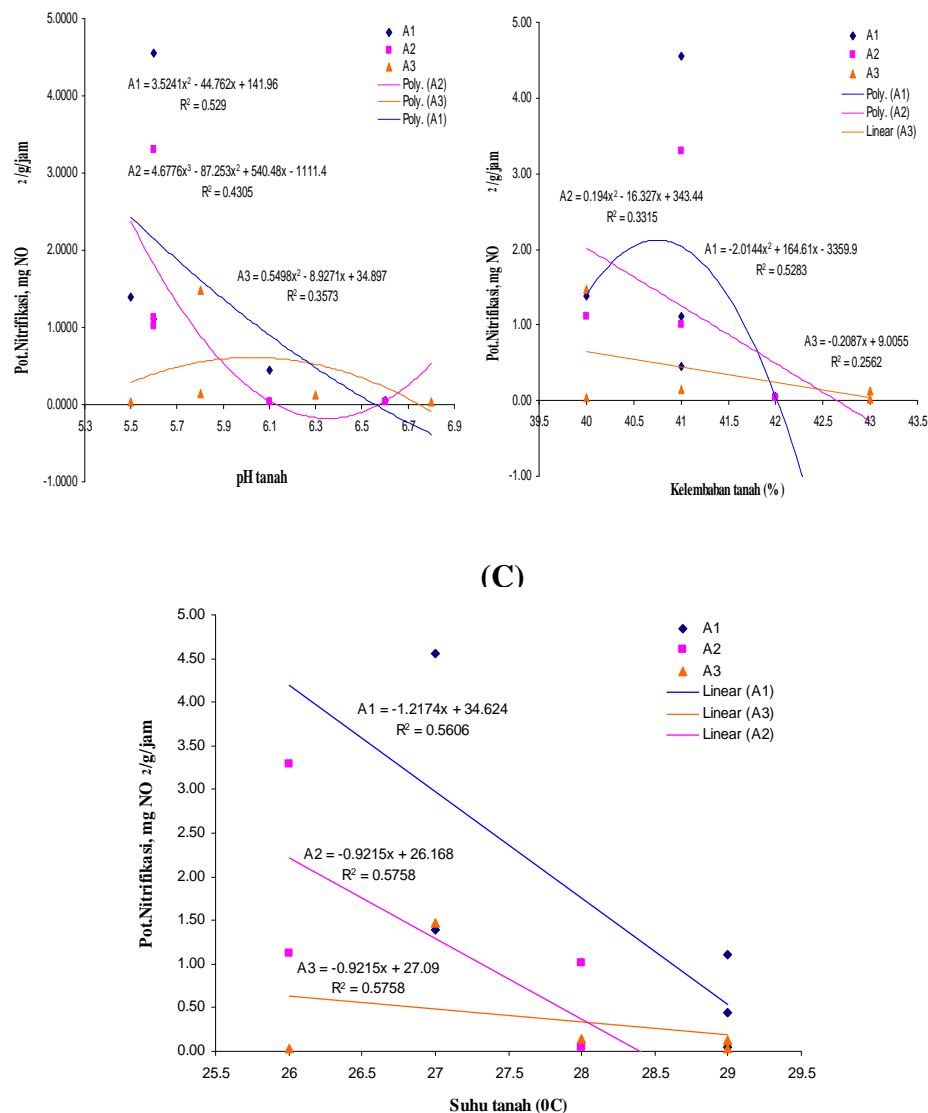
Sedangkan rerata populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  pada ketiga seresah selalu lebih rendah dari populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$ . Kenyataan ini sesuai dengan pernyataan Haynes (1995) dan Myrold (1999) dalam Purwanto (2006) bahwa bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  lebih peka terhadap amonia dan pH tinggi dibanding bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  sehingga populasinya lebih rendah daripada bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$ . Tingginya populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  karena rendahnya

populasi mikrobial heterotrof sebagai pesaing dalam memperebutkan  $O_2$  dan  $NH_4^+$  sebagai substrat nitrifikasi yang berasal dari penambahan pupuk  $(NH_4)_2SO_4$ . Ketersediaan  $NH_4^+$  syarat utama berlangsungnya proses nitrifikasi. Apabila mineralisasi bahan organik terhambat atau tanpa pemupukan, maka nitrifikasi tidak akan terjadi. Laju nitrifikasi juga tergantung pada kepadatan populasi bakteri nitrifikasi dan efisiensi enzim yang mengkatalis reaksi tersebut (Paul dan Clark, 1989; Mancinelli, 1992; Myrold, 1999 *cit.* Purwanto, 2006). Bakteri pengoksidasi  $NH_4^+$  membutuhkan banyak  $NH_4^+$  sebagai sumber energi metabolismenya sehingga pembelahan selnya membutuhkan waktu beberapa hari. Ini sesuai dengan pernyataan Tate (1995) yang menyatakan bakteri nitrifikasi berkembang sangat lambat, sehingga seringkali nitrifikasi baru berlangsung setelah selang beberapa hari dari penambahan  $NH_4^+$  ke dalam tanah.

Selanjutnya pada uji korelasi diketahui potensial nitrifikasi cenderung berkorelasi positif dengan bakteri pengoksidasi  $NH_4^+$  ( $r=0.265$ ,  $P\text{-value}=0.258$ ) dan fungi ( $r=0.054$ ,  $P\text{-value}=0.820$ ) sedangkan dengan actinomycetes ( $r=-0.595$ ,  $P\text{-value}=0.006$ ), bakteri heterotrof ( $r=-0.499$ ,  $P\text{-value}=0.025$ ) dan bakteri pengoksidasi  $NO_2^-$  ( $r=-0.543$ ,  $P\text{-value}=0.013$ ) berkorelasi negatif. Dimana meningkatnya populasi bakteri pengoksidasi  $NH_4^+$  dan fungi diikuti oleh peningkatan potensial nitrifikasi. Potensial nitrifikasi juga berkorelasi positif dengan pH namun, berkorelasi negatif dengan suhu dan kelembaban tanah. Berdasarkan penelitian Bardgett (2005) *cit.* Purwanto *et al.*, (2007) dapat diketahui bakteri nitrifikasi bersifat lebih peka terhadap kondisi lingkungan dibanding mikroba heterotrof dalam tanah. Faktor-faktor yang berhubungan dengan nitrifikasi meliputi populasi bakteri nitrifikasi, ketersediaan  $NH_4^+$ , pH dan konsentrasi kation-kation basa, aerasi, drainase, kelembaban, suhu, garam-garam pupuk serta keberadaan senyawa penghambat nitrifikasi dalam tanah.

(A)

(B)



Gambar 7. Hubungan pH tanah (A), kelembaban tanah (B) dan suhu tanah (C) dengan potensial nitrifikasi pada berbagai waktu inkubasi (Keterangan: A<sub>1</sub>: *Manihot esculenta*; A<sub>2</sub>: *Curcuma domestica*; A<sub>3</sub>: *Anacardium occidentale*).

Gambar 7 memperlihatkan hasil pengukuran pH mulai hari ke-10 hingga akhir inkubasi (hari ke-20) menurun hingga masam 5.8 diikuti penurunan potensial nitrifikasi pada semua seresah dengan nilai potensial terendah yaitu (0.0293 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup>jam<sup>-1</sup>) pada seresah *Anacardium occidentale*. Myrold, 1998 dalam Purwanto (2004) menyatakan populasi tertinggi bakteri nitrifikasi dijumpai pada pH sekitar netral sampai alkalin

(sekitar 6,6–8,0) sedangkan dibawah pH 5,0 nitrifikasi akan menurun, namun kadang-kadang masih dijumpai bakteri nitrifikasi dan  $\text{NO}_3^-$  pada pH dibawah 4,5. Hasil penelitian Hairiah (1994) menyatakan dengan mempertahankan pH  $\text{H}_2\text{O}$  tanah sekitar 4,5–5,0 dan mengendalikan pelepasan  $\text{NH}_4^+$  pada konsentrasi  $\text{NH}_4^+ < 100 \text{ mg kg}^{-1}$  maka nitrifikasi potensial masih berada dalam tingkat yang relatif rendah ( $< 40 \text{ mg NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ ). Untuk mempertahankan konsentrasi  $\text{NH}_4^+ < 100 \text{ mg kg}^{-1}$ , pH tanah dipertahankan antara 4.5–5.0; kisaran pH ini merupakan kisaran aman bagi pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian ini mendukung pernyataan tersebut karena secara keseluruhan populasi tertinggi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  pada semua perlakuan seresah dijumpai di hari ke 5 pada pH kisaran netral 6.8 dengan nilai tertinggi  $45.10^4 \text{ g}^{-1}$  tanah terjadi pada seresah *Manihot esculenta* dan terendah pada seresah *Anacardium occidentale* ( $16.10^4 \text{ g}^{-1}$  tanah) diinkubasi terakhir.

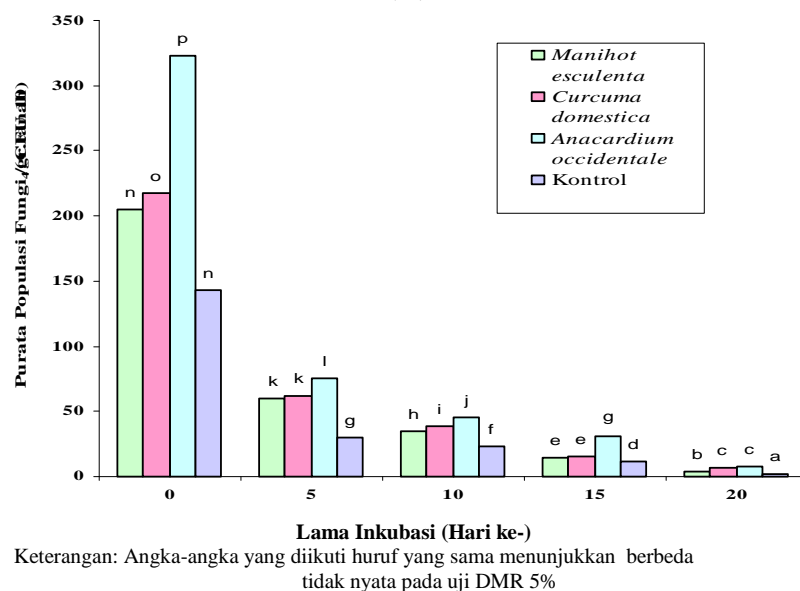
Penurunan potensial nitrifikasi pada semua perlakuan seresah menurun sejalan dengan meningkatnya kelembaban tanah. Hal ini disebabkan karena kelembaban tanah yang tinggi akan mengurangi kandungan  $\text{O}_2$  dalam tanah (Paul dan Clark, 1989). Tate (1995) dan Myrold (1999) juga menyatakan nitrifikasi berlangsung optimal pada kadar lengas kapasitas lapangan atau sekitar 60% ruang porinya terisi air. Bakteri nitrifikasi lebih peka terhadap defisit kelembaban dibanding mikrobial amonifikasi (pendekomposisi seresah).

Dalam penelitian ini penurunan potensial nitrifikasi juga akan diikuti kenaikan suhu. Semakin lama waktu inkubasi sumber bahan organik dari seresah makin menurun sebab telah dikonsumsi oleh mikrobial heterotrof sehingga menurunkan daya ikat tanah terhadap air sehingga suhu menjadi naik. Hakim *et al.*, 1996 menyatakan bahwa suhu tanah sangat menunjang proses nitrifikasi. Proses nitrifikasi akan bejalan baik antara 27-32°C. Pada suhu 52°C nitrifikasi secara praktis berhenti dan pada titik beku nitrifikasi tidak terjadi.

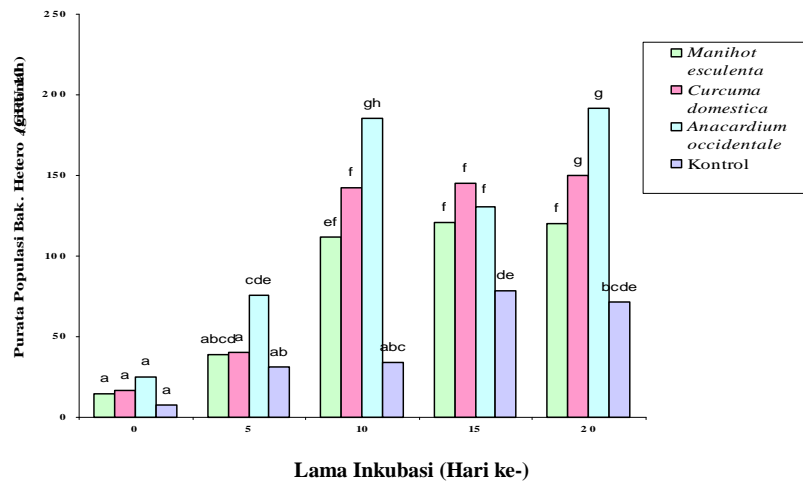
## 2. Mikrobial Heterotrof (Fungi, Bakteri dan Actinomycetes)

Dari hasil uji F (tabel Lampiran 1) memperlihatkan ada interaksi yang sangat nyata ( $P\text{-value} < 0.01$ ) antara waktu inkubasi dan pemberian seresah terhadap populasi mikrobia heterotrof (bakteri, fungi dan actinomycetes). Populasi bakteri dan actinomycetes cenderung meningkat namun populasi fungi menurun pada semua perlakuan seresah dengan makin lamanya inkubasi. Hal ini karena ada persaingan memperebutkan nutrisi yang bersumber dari C-organik seresah sebagai sumber energi bagi mikrobia heterotrof. Semakin tinggi C-organik maka mikrobia heterotrof semakin banyak dengan meningkatnya kandungan karbon akan diikuti oleh populasi mikrobia tanah (Sylvia *et al.*, 1999).

(A)



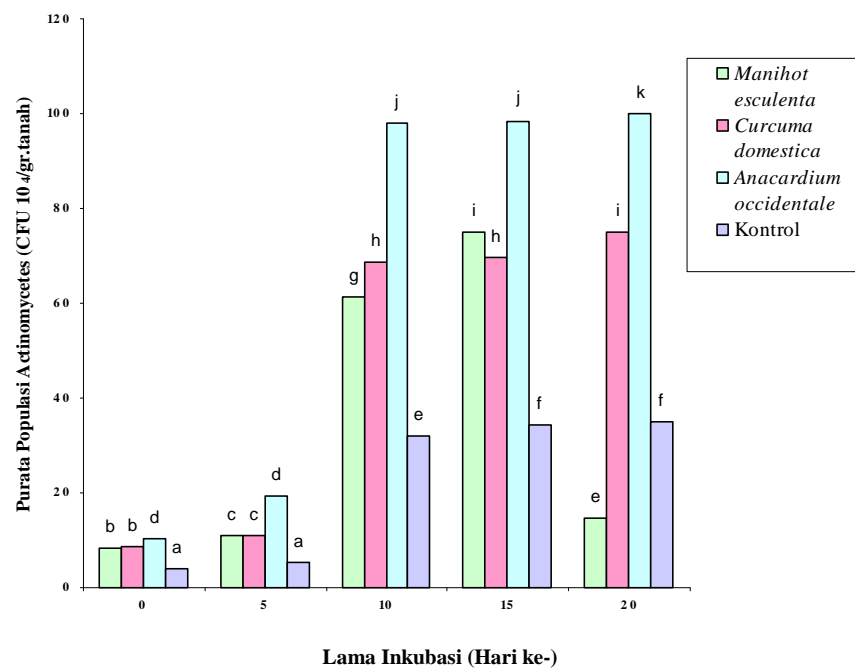
Gambar 8A. Histogram fungi pada berbagai pemberian seresah tanaman  
(B)



Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji DMR 5%

Gambar 8B. Histogram bakteri heterotrof pada berbagai pemberian seresah tanaman

(C)



Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji DMR 5%

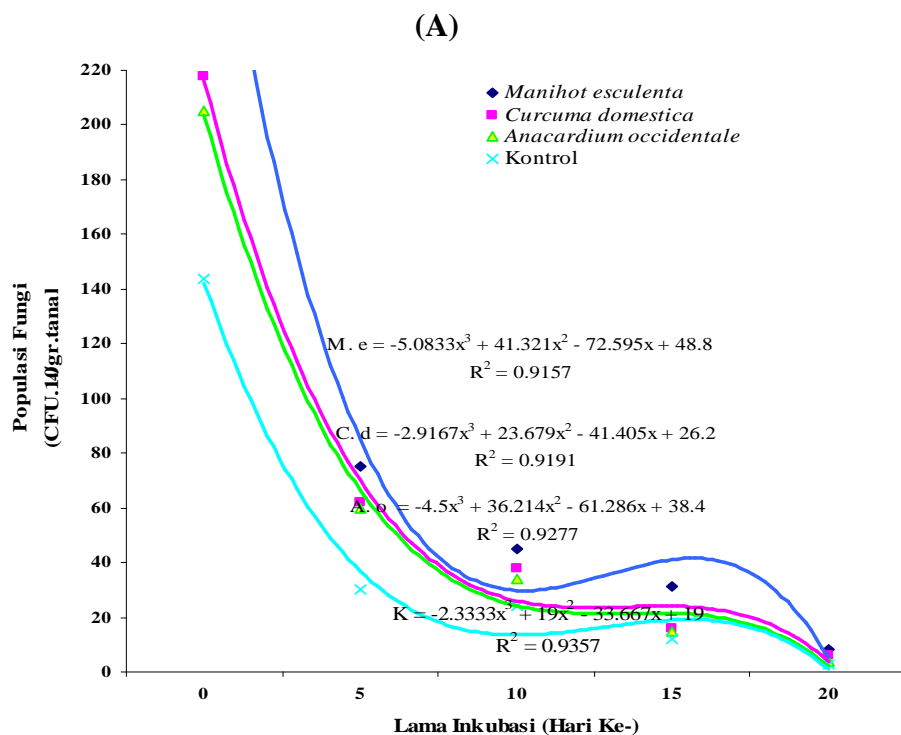
Gambar 8C. Histogram actinomycetes pada berbagai pemberian seresah tanaman.

Dari uji DMR dengan taraf 5% terlihat penambahan seresah tanaman selama 20 hari inkubasi meningkatkan populasi bakteri heterotrof (Gambar 8B) dan actinomycetes (Gambar 8C) namun terjadi penurunan populasi fungi (Gambar 8A). Pada hari ke 20 perlakuan

seresah *Anacardium occidentale* mempunyai populasi bakteri heterotrofnya paling tinggi dibanding seresah lain karena menang dalam kompetisi memanfaatkan sumber C-organik sebagai sumber energi.

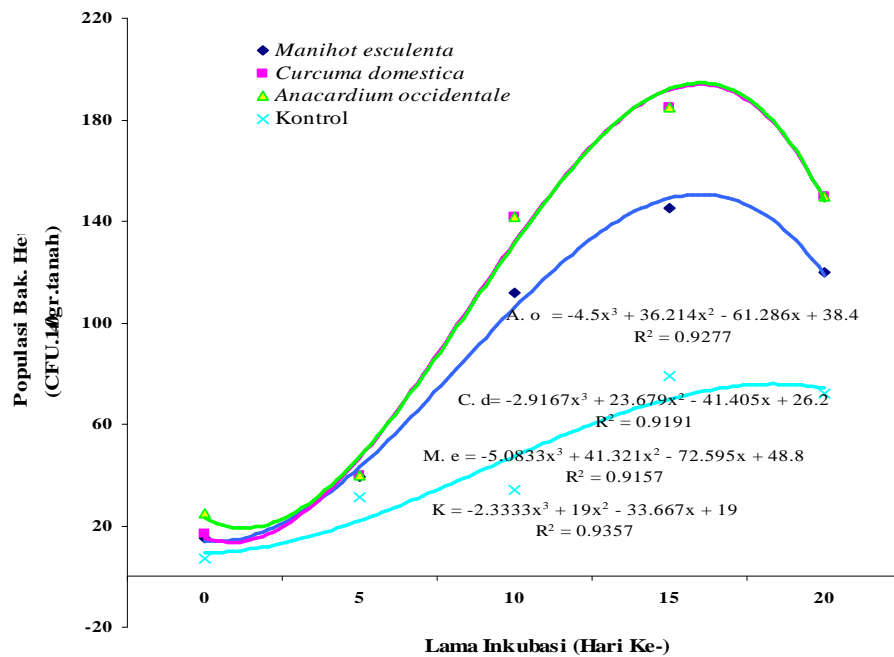
Selanjutnya dari uji korelasi diketahui mikrobial heterotrof yang berkorelasi paling erat dengan potensial nitrifikasi adalah actinomycetes ( $r=-0.595$ ,  $P\text{-value}=0.006$ ) diikuti bakteri ( $r=-0.499$ ,  $P\text{-value}=0.025$ ) dan fungi ( $r=0.054$ ,  $P\text{-value}=0.820$ ). Hal ini berarti semakin banyak populasi actinomycetes, potensi nitrifikasi makin menurun.

Penambahan seresah selama 20 hari inkubasi, dapat meningkatkan populasi bakteri dan actinomycetes, namun terjadi penurunan populasi fungi dengan nilai bervariasi (Gambar 9). Pada gambar 8A, 8B dan 8C terlihat adanya perbedaan antara jumlah populasi bakteri heterotrof, fungi, maupun actinomycetes.



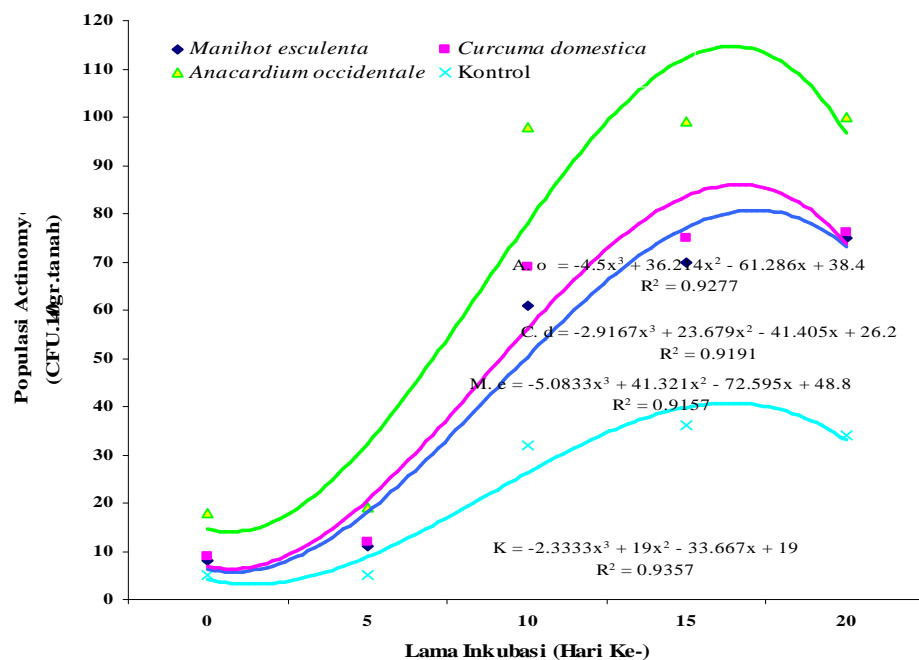
Gambar 9A. Hubungan fungi terhadap potensial nitrifikasi pada berbagai pemberian seresah dan waktu inkubasi.

(B)



Gambar 9B. Hubungan bakteri heterotrof terhadap potensial nitrifikasi pada berbagai pemberian serasah dan waktu inkubasi.

(C)



Gambar 9C. Hubungan actinomycetes terhadap potensial nitrifikasi pada berbagai pemberian serasah dan waktu inkubasi.



Mikrobia heterotrof yang paling aktif mendekomposisi seresah pada minggu pertama adalah fungi, diikuti bakteri heterotrof selanjutnya actinomycetes. Populasi fungi terendah pada seresah *Manihot esculenta* (berkualitas tinggi) karena terdekomposisi paling cepat. Hal ini terlihat dari tingginya nilai penurunan nisbah C/N dibanding seresah *Curcuma domestica* dan *Anacardium occidentale* (berkualitas rendah) yaitu sekitar 18% selama 20 hari inkubasi (Lampiran 1) sehingga tidak menyisakan sumber C-organik sebagai sumber energi. Selanjutnya fungi kalah bersaing dengan bakteri dan actinomycetes dalam memperebutkan sumber energi tersebut. Populasi fungi semakin menurun dibanding bakteri dan actinomycetes sejalan dengan makin lamanya waktu inkubasi pada semua perlakuan seresah. Hal ini terjadi karena fungi lebih suka mengkonsumsi seresah pada awal dekomposisi (Brady and Weil, 2002; Havlin *et al.*, 1999). Fungi juga lebih efisien mengasimilasi seresah dibanding bakteri karena segera menguraikan bahan yang mudah dimetabolisir seperti pati, protein dan gula, namun sebagian besar hara hasil mineralisasi digunakan untuk membangun miseliumnya (Wolf dan Synder, 2003; Myrold, 1999).

Pada penelitian ini populasi bakteri pada ketiga seresah paling dominan bila dibanding actinomycetes dan fungi karena bakteri mempunyai kemampuan metabolisme yang lebih luas dibanding actinomycetes dan fungi. Apabila actinomycetes dan fungi bersifat aerob, maka bakteri ada yang bersifat aerob, anaerob, fakultatif anaerob dan ada pula yang mampu mengubah sistem metabolismenya dengan menyesuaikan pada konsentrasi O<sub>2</sub> di sekitarnya. Populasi bakteri heterotrof perlakuan seresah mengalami kenaikan pada inkubasi hari ke-0, 5, 10, 15, dan mencapai puncaknya pada hari ke-20. Populasi bakteri heterotrof pada berbagai seresah tanaman selama inkubasi lebih tinggi daripada perlakuan kontrol, karena pada kontrol tidak tersedia sumber C yang cukup untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri heterotrof. Bakteri juga sangat tanggap terhadap masukan senyawa sederhana seperti pati dan gula. Sedangkan fungi dan actinomycetes akan dominan dalam dekomposisi seresah yang resisiten seperti selulosa, khitin, dan

fosfolipida sehingga lebih dominan pada tahap akhir dekomposisi, setelah substrat yang mudah termetabolisme habis terurai (Rao, 1999; Brady and Weil, 2002).

Dari hasil penelitian diketahui bahwa populasi actinomycetes mengalami peningkatan pada setiap waktu inkubasi dan mencapai puncaknya pada inkubasi hari ke 20. Hal ini dikarenakan pada awal dekomposisi yang tersedia adalah senyawa-senyawa yang bagi actinomycetes tidak dapat dimanfaatkan untuk bermetabolisme. actinomycetes akan dominan apabila terdapat bahan organik kaya selulosa atau senyawa resisten dan memerlukan waktu yang lebih lama untuk terurai (Brady and Weil, 2002). Pada akhir inkubasi, seresah *Anacardium occidentale* (kualitas rendah) mempunyai populasi actinomycetes yang paling tinggi ( $100.10^4$  CFU g<sup>-1</sup> tanah). Hal ini dikarenakan kandungan ligninnya paling tinggi, yaitu 27.28%. Populasi actinomycetes terendah terdapat pada perlakuan pemberian seresah *Manihot esculenta* (kualitas tinggi) sebesar  $75.10^4$  CFU g<sup>-1</sup> tanah di akhir inkubasi dengan kandungan lignin 15.92%. Seresah *Curcuma domestica* (kualitas sedang) mempunyai populasi actinomycetes sebesar  $76.10^4$  CFU g<sup>-1</sup> tanah dengan kandungan lignin 11.18%. Oleh karena itu populasi bakteri dan actinomycetes tertinggi terjadi pada pemberian seresah *Anacardium occidentale* (berkualitas rendah) yang memiliki kandungan selulosa, lignin, polifenol, nisbah (P+L)/N dan nisbah C/N paling tinggi (Tabel 3) bila dibanding seresah *Curcuma domestica* (kualitas sedang) dan sehingga menghambat potensial nitrifikasi.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. KESIMPULAN

1. Pemberian seresah *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* berpengaruh sangat nyata menurunkan potensial nitrifikasi, populasi bakteri nitrifikasi dan mikrobial heterotrof dengan  $P$  value = 0.000.
2. Pemberian seresah *Manihot esculenta* (berkualitas tinggi dengan kandungan polifenol 4.75 %, lignin 15.92 %, nisbah C/N 18.17 dan nisbah (P+L/N) 17.42) menurunkan potensial nitrifikasi sebesar 8.82%, seresah *Curcuma domestica* (berkualitas sedang dengan kandungan polifenol 2.53 %, lignin 11.18 %, nisbah C/N 22 dan nisbah (P+L/N) 19.87) sebesar 34.26 % namun, seresah *Anacardium occidentale* (berkualitas rendah dengan kandungan polifenol 16.44 %, lignin 27.28 %, nisbah C/N 25.56 dan nisbah (P+L/N) 24.50) mampu menurunkan potensial nitrifikasi Alfisols Jumantono hingga 70.54 % (yaitu dari 4.99 menjadi  $1.47 \text{ mg NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ ).
3. Waktu inkubasi yang paling efektif menurunkan nitrifikasi dari pemberian seresah *Anacardium occidentale*, *Curcuma domestica* dan *Manihot esculenta* adalah hari ke-20 dengan potensial nitrifikasi terendah sebesar  $1.47 \text{ mg NO}_2^- \text{ kg}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ .
4. Kandungan kualitas seresah yang berkorelasi paling erat terhadap penurunan potensial nitrifikasi adalah nisbah (P+L)/N (27.4 %) kemudian diikuti lignin (27.2 %), nisbah C/N (19.6 %) dan polifenol (16.7 %) secara terpisah.
5. Potensial nitrifikasi cenderung berkorelasi positif dengan bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$ , fungi dan berkorelasi negatif dengan actinomycetes, bakteri heterotrof serta bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$ .

### B. SARAN

1. Saran bagi peneliti berikutnya
  - a. Perlu penelitian yang lebih mendalam untuk memastikan apakah hambatan nitrifikasi dari seresah berkualitas rendah merupakan hambatan yang bersifat langsung terhadap aktifitas bakteri

pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  ataupun akibat terhambatnya ketersediaan  $\text{NH}_4^+$  akibat lambatnya proses dekomposisi.

- b. Mengingat rendahnya produksi  $\text{NO}_2^-$  pada pengukuran nitrifikasi potensial maka untuk perbaikan metode disarankan dengan meningkatkan bobot tanah dari masing masing contoh tanah yang akan diukur dari 5 gram menjadi 25 gram atau memperpanjang waktu inkubasi dari 5 jam menjadi 12 atau 24 jam.
- c. Diperlukan ketelitian yang cermat dalam pengamatan MPN karena degradasi warna yang hampir sama akan menyulitkan pembedaan jumlah populasi bakteri nitrifikasi antar pengenceran sehingga diperlukan adanya penggunaan standar warna misalnya katalog sampel warna cat.
- d. Perlunya pengukuran konsentrasi  $\text{NH}_4^+$  dan  $\text{NO}_3^-$  dalam tanah sehingga dapat diketahui adanya penghambatan potensial nitrifikasi lebih tepat.

## **2. Saran bagi petani Jumantono**

Sistem penanaman agroforestry (perpaduan tanaman pokok tahunan dengan tanaman semusim) dapat dilakukan namun, sebaiknya dilakukan juga sistem penanaman dengan tanaman penutup tanah sebagai mulsa bahan organik. Dengan demikian hilangnya hara akibat pelindian melalui proses nitrifikasi menjadi berkurang sehingga lebih sesuai dengan jumlah dan saat dibutuhkan tanaman.

## **3. Saran bagi penentu kebijakan**

Upaya penghambatan nitrifikasi melalui peningkatan keanekaragaman kualitas masukan seresah di Jumantono tidak akan tercapai tanpa dukungan terutama dari instansi pemerintah terkait. Oleh karena itu bimbingan teknis sangat dibutuhkan oleh petani Jumantono yang rata-rata mempunyai tingkat pendidikan rendah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2007. *Budidaya Tanaman Ubi Karet (Manihot esculenta)*. <http://www.sasamba.or.id/agribisnis/pangan/singkong.rtf>. Diakses pada tanggal 17 Mei 2007.
- , 2007. *Budidaya Jambu Mete (Anacardium occidentale)*. [http://bebas.vlsm.org/v12/artikel/tanaman\\_obat/depkes/buku1/1021.pdf](http://bebas.vlsm.org/v12/artikel/tanaman_obat/depkes/buku1/1021.pdf). Diakses pada tanggal 17 Mei 2007.
- , 2007. *Budidaya Kunyit (Curcuma domestica) Tanaman Obat Indonesia*. <http://www.sasamba.or.id/agribisnis/pangan/singkong.rtf>. Diakses pada tanggal 17 Mei 2007.
- Bardgett, R.D. 2005. *The Biology of Soil. A Community and Ecosystem Approach*. Oxford University Press Inc., New York. 242 p.
- Blaise, D, A. Amberger and S. Tucker. 1999. *Efficacy of CMP [1-carboxamide, 3-(5)-methylpyrazole] and DCD (dicyandiamide) as Nitrification Inhibitor*. Journal of the Indian Society of Soil Science. 9. 47(1). 80 – 84.
- Bolton, H.J, J.K Fredericson and L.F Elliotte. 1993. *Microbial Ecology of the Rhizosphere*. dalam Blaine Metting, FJ. (eds.) *Soil Microbial Ecology. Application in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker, Inc.
- Brady, N.C and R.R Weil. 2002. *The Nature and Properties of Soils*. Thirteenth Edition. Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, New Jersey. 960 hal.
- Cornelius, J.A. 1966. *Chesew Nut Shell Liquid and Related materials*. *Tropical Science*. UK. 79-84 p.
- Darmawijaya, I. 1997. *Klasifikasi Tanah Dasar Teori Bagi Peneliti Tanah dan Pelaksanaan Pertanian di Indonesia*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Fike E. 2005. *Pengaruh Berbagai Dosis dan Tingkat Kandungan Polifenol Bahan Organik terhadap Penghambatan Nitrifikasi pada Entisol, Lampung Barat*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Foth, D.H. 1994. *Dasar – Dasar Ilmu Tanah*. Erlangga. Jakarta.
- Haendler, L and Duverneuil. 1970. *Note Surles Possibilities de Transformation des Fruits et des faux fruits de l'anacardier (Anacardium occidentale)*. *Fruits, France*. 379-384 p.
- Handayanto, E., Y. Nuraini., P. Purnomosidhi., M. Hanegraaf., G. Agterberg., J. Hassink and M.Van Nordwijk. 1992. *Decomposition rates of legume residues and N mineralization in an Ultisol in Lampung*. *Agrivita*, 15 (1): 75-86.

- Hairiah, K., D. Suprayogo, Widiyanto, Berlian, E. Suhara, A. Mardiasuning, R.H Widodo, C. Prayogo dan S. Rahayu. 2004. Alih Guna Lahan Hutan Menjadi Lahan Agroforestri Berbasis Kopi: Ketebalan Seresah, Populasi Cacing Tanah dan Makroporositas Tanah. *Agrivita*, 26(1), 68-80.
- Hairiah, K, S. Rahayu and Berlian. 2006b. Layanan Lingkungan Agroforestri Berbasis Kopi: Cadangan Karbon Dalam Biomassa Pohon dan Bahan Organik Tanah (Studi Kasus dari Sumberjaya, Lampung Barat). *Agrivita*, 28 (3): 298-309.
- Hakim, N, Nyakpa, M.Y, Lubis, A.Nugroho, S.E. Diha., M. Hong, G.Bailey. 1986. *Dasar-dasar Ilmu Tanah*. Universitas Lampung.
- Hardjowigeno, S. 1995. *Ilmu Tanah*. Edisi Revisi. Penerbit Akademika Presindo. Jakarta. hal 126.
- Hutchinson, G.L. 1995. Nitrogen Cycle Interactions with Clobal Change Processes. In: Encyclopedia of Environmental Biology. Volume 2. Nierenberg, W.A (ed.). *Academic Press*. 563 – 578.
- Kandeler, E. 1995. *Potential Nitrification*. Dalam: Methods in Soil Biology. Schinner, F., Kandeler, E., Ohlinger, R. dan Margesin, R. (eds.) *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. 146 -149.
- Kermasha, S, M. Goethebeur and J. Dumont. 1995. *Determination of Phrnlolic Compound Profiles in Maple Products by HPLC*. J.Agric Food Chem. 43, 708-716.
- Lavelle, P and A.V. Spain. 2001. Soil Ecology. *Kluwer Academic Publisher*., Dordrecht. 654 p.
- Lopez, H.C. 1972. *Composiao quimica e aproveitamento da pera de caju de Mozambique*. Agronomia Mocambicana (Mozambique) 6, 2, p.119-131.
- Metting, F. Jr, Blaine. 1992. (ed.) *Soil Microbial Ecology*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Minardi, S. 2002. *Kajian Komposisi Pupuk NPK terhadap Hasil Beberapa Varietas Tanaman Buncis Tegak di Tanah Alfisol*. Jurnal Sains Tanah Vol. 2 No. 1, Juli 2002. UNS. Surakarta.
- Munir, M. 1992. *Tanah-Tanah Utama Indonesia*. PT. Dunia Pustaka Jaya, Jakarta.
- Murphy, D.V, E.A Stockdale, P.C Brookes and K.W.T Goulding. 2003. Impact of Microorganisms on Chemical Transformation in Soil. In: Soil Biological Fertility. A Key to Suistanable Land Use in Agriculture. Abbot, L.K. and Murphy, D.V. (eds.). *Kluwer Academic Publisher, Netherland*. 37-59.
- Myrold, D.D. 1999. *Transformation of Nitrogen*. Dalam: Principles and Application of Soil Microbiology. Sylvia, D.M.; Jeffry, J.F; Peter, G.H and David A.Z. (eds.) *Prentice Hall, New Jersey*. 259 – 294.

- Palm, C.A and P.A Sanchez. 1991. Nitrogen release from some tropical leegumes as affected by lignin and polifenol contents. *Soil Biol. Biochem.* 23. 83-88.
- Pamungkas, B. 2005. *Potensial Nitrifikasi Tanah Gambut (Histosols) dan Kambisols (Inceptisols) dengan Variasi Pemupukan Nitrogen dan Fosfor di Perkebunan Kelapa Sawit PT. SMART, Tbk RIAU*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Paul, E.A and F.E Clarck. 1989. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, Inc.
- Peoples, MB, JR.Freney and A.R Mosier. 1995. *Minimizing gaseous losses of nitrogen*. In : Nitrogen Fertilization in the Environment, PE Bacon (ed.). Marcel Dekker, Inc., New York. pp.565-602.
- Purwanto. 2004. *Dinamika Nitrifikasi Pada Berbagai Variasi Bahan Organik Tanah*. Proposal Penelitian Disertasi. Program Pasca Sarjana. Universitas Braawijaya. Malang.
- Purwanto, E. Handayanto, D. Suprayogo and K. Hairiah, 2007. Dampak Alih Guna Hutan Menjadi Agroforestri Kopi Terhadap Tingkat Nitrifikasi: Inventori Populasi dan Aktivitas Bakteri Nitrifikasi. *Agrivita*, 28 (3): 267-285.
- Rao, SNS., 1994. *Soil Microorganisms and Plant Growth*. Oxford & IBH Publishing Company. New Delhi.
- Rukmana, R. 1994. *Kunyit*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Rice, E.L.,1984. *Allelopathy*. second edition. Academic Press. New York.
- Rismunandar, 1988. *Rempah-Rempah Komoditi Ekspor Indonesia*. C.V Sinar Baru, Bandung.
- Scorca, R.W and M. Ahmed. 1993. *Terpenes of Persea tolimansis, an Ancestor of the Guatemalan Avocados*. *J.Agric.Food Chem.* 41, 1971-1973.
- Schinner, F, E. Kandeler, R. Ohlinger and R. Mergesin (eds.) 1995. *Methods in Soil Biology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 426 p.
- Stevenson, F.J. 1986. *Cycles of Soil. Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*. A Wiley-Interscience Publication. John Wiley & Sons. New York.
- Sumaryo, 1982. *Ilmu Kimia Tanah*. FP UNS. Surakarta.
- Suprayogo,D, Widiyanto, P.Purnomosidhi, R.H. Widodo, F. Rusiana,Z.Z Aini, N. Khasanah, Z. Kusuma. 2004. Degradasi sifat fisik tanah sebagai akibat alih guna lahan hutan menjadi sistem kopi monokultur: kajian perubahan makroporositas tanah. *AGRIVITA*, 26 (1), 60-67.
- Sutedjo, M, A.G Kartosapoetra dan R. D Sastrroatmodjo. 1996. *Mikrobiologi Tanah*. PT Rineka Cipta. Bandung.

- Sylvia, D.M, J.F. Jeffry, G.H Peter and A.Z David. 1999. *Principles and Application of Soil Microbiology*.
- Tate, R. L. 1995. *Soil Microbiology*. John Wiley dan Sons, Inc.
- Umi, S. 2006. *Kajian Aplikasi Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit (LCPKS) Terhadap Populasi Bakteri Nitrifikasi dan Potensi Nitrifikasi di Perkebunan Kelapa Sawit PT. SMART,Tbk RIAU*. Skripsi S1 Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Van Noordwijk, M and P De Willigen. 1987. Root as sinks and sources of carbon and nutrient in agricultural systems. In: Brussaard,L. and Ferrera-Cerrato,R. (eds). *Soil Biology in Sustainable Agricultural Systems*. CRC Lewis Publ., Boca Raton, Florida, pp 71-89.
- Volk, W.A dan M.F. Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Erlangga. Jakarta.
- Saragih, Y.P. 1994. *Budidaya Jambu Mete dan Pengupasan Gelondong*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Tan, K.H. 1982. *Dasar-dasar Kimia Tanah*. Terjemahan Didiek Hadjar Goenadi 1991. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Zebarth, B.J, J.W Paul and R.Van Kleeck. 1999. The effect of nitrogen management in agricultural production on water and air quality: evaluation on a regional scale. *Agriculture, Ecosystem and Environment* 72. 35-52.



## Lampiran 1. Sifat Kimia Tanah Pada Berbagai Perlakuan dan Waktu Inkubasi

Jenis Perlakuan	Waktu Inkubasi	C (g kg <sup>-1</sup> )	N (g kg <sup>-1</sup> )	C/N	pH	Suhu Tanah (°C)	Kelembaban Tanah (%)
Kontrol	0 hari	28.1	2.8	10.03	5.5	26	40
	5 hari	38.2	3.1	12.35	6.3	26	40
	10 hari	34.1	2.9	11.78	5.5	27	41
	15 hari	34.6	3.1	11.17	6.1	27	41
	20 hari	28.1	2.8	10.07	5.5	27	42
<i>Manihot esculenta</i>	0 hari	315.4	23.7	13.31	5.5	27	40
	5 hari	343.9	22.9	15.02	6.6	27	41
	10 hari	344.7	22.4	15.39	5.6	29	41
	15 hari	362.9	21.5	16.88	6.1	29	41
	20 hari	335.5	20.7	16.21	5.6	29	42
<i>Curcuma domestica</i>	0 hari	415.4	22.9	18.14	5.6	26	40
	5 hari	388	21.5	18.05	6.6	26	41
	10 hari	355.5	20.9	17.01	5.6	28	41
	15 hari	351.5	20.5	17.15	6.1	28	42
	20 hari	323.7	19.8	16.35	5.6	28	42
<i>Anacardium occidentale</i>	0 hari	337.4	15.1	22.34	5.5	26	40
	5 hari	339.4	16.5	20.57	6.8	27	40
	10 hari	378.9	17.8	21.29	6.3	28	41
	15 hari	407.2	18.2	22.38	5.8	29	43
	20 hari	422.9	19.1	22.14	5.8	29	43

Sumber: Hasil Analisis Laboratorium FP UNS

## Lampiran 2. Populasi Bakteri Nitrifikasi

Jenis Perlakuan	Populasi Bakteri Pengoksidasi NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (10 <sup>4</sup> CFUg <sup>-1</sup> tanah)				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	54	69	84	84	95
<i>Manihot esculenta</i>	40	45	39	35	33
<i>Curcuma domestica</i>	33	41	32	33	24
<i>Anacardium occidentale</i>	24	29	26	24	17
Jenis Perlakuan	Populasi Bakteri Pengoksidasi NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (10 <sup>4</sup> CFUg <sup>-1</sup> tanah)				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	2	2	5	6	7
<i>Manihot esculenta</i>	10	16	26	31	38
<i>Curcuma domestica</i>	9	14	21	28	36
<i>Anacardium occidentale</i>	7	9	14	19	25

Sumber: Hasil Analisis Laboratorium FP UNS

## Lampiran 3. Populasi Mikroba Heterotrof (Bakteri, Fungi dan Actinomycetes)

Jenis Perlakuan	Populasi Bakteri Heterotrof
-----------------	-----------------------------

	(10 <sup>4</sup> CFUg <sup>-1</sup> tanah)				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	7	31	34	79	72
<i>Manihot esculenta</i>	15	39	112	145	120
<i>Curcuma domestica</i>	17	40	142	185	150
<i>Anacardium occidentale</i>	25	76	186	191	192
Jenis Perlakuan	Populasi Actinomycetes (10 <sup>4</sup> CFUg <sup>-1</sup> tanah)				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	5	5	32	36	34
<i>Manihot esculenta</i>	8	11	61	70	75
<i>Curcuma domestica</i>	9	12	69	75	76
<i>Anacardium occidentale</i>	18	19	98	99	100
Jenis Perlakuan	Populasi Jamur (10 <sup>4</sup> CFUg <sup>-1</sup> tanah)				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	144	30	24	12	3
<i>Manihot esculenta</i>	323	75	45	31	8
<i>Curcuma domestica</i>	218	62	38	16	6
<i>Anacardium occidentale</i>	205	60	34	15	4

Sumber: Hasil Analisis Laboratorium FP UNS

#### Lampiran 4. Potensial Nitrifikasi per Perlakuan

Jenis Perlakuan	Potensial Nitrifikasi (mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> g <sup>-1</sup> jam <sup>-1</sup> )				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	1.5050	4.9979	2.5063	0.7416	0.4715
<i>Manihot esculenta</i>	1.0390	4.5521	1.1141	0.4425	0.0522
<i>Curcuma domestica</i>	1.1176	3.2985	1.0103	0.0438	0.0408
<i>Anacardium occidentale</i>	0.0362	1.4787	0.1439	0.1320	0.0293

Sumber: Hasil Analisis Laboratorium FP UNS

## Lampiran 5. Hasil Ringkasan Uji DMR Taraf 5% Mikrobial Tanah

Jenis Perlakuan	Purata Populasi Bakteri Pengoksidasi $\text{NH}_4^+$ ( $10^4$ CFUg <sup>-1</sup> tanah)				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	54.3333j	68.6667h	84.3333l	84.3333l	95.6667m
<i>Manihot esculenta</i>	40.3333gh	45.3333i	39.0000g	35.0000f	32.6667e
<i>Curcuma domestica</i>	33.3333e	40.6667h	32.6667e	24.0000b	24.3333b
<i>Anacardium occidentale</i>	24.3333b	29.0000d	26.3333c	24.0000d	16.6667a
Jenis Perlakuan	Purata Populasi Bakteri Pengoksidasi $\text{NO}_2^-$ ( $10^4$ CFUg <sup>-1</sup> tanah)				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	1.8333a	1.6667a	5.1333b	5.7000b	6.9333c
<i>Manihot esculenta</i>	10.0000d	16.3333f	26.0000j	30.6667l	38.0000n
<i>Curcuma domestica</i>	9.2667d	14.3333e	20.6667h	28.0000k	36.3333m
<i>Anacardium occidentale</i>	6.9333c	9.1333d	14.3333e	19.0000g	24.6667i
Jenis Perlakuan	Purata Populasi Bakteri Heterotrof ( $10^4$ CFUg <sup>-1</sup> tanah)				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	7.3333a	31.3333ab	34.3333abc	78.6667de	71.6667bcde
<i>Manihot esculenta</i>	14.6667a	39.0000abcd	112.0000ef	120.6667f	120.3333f
<i>Curcuma domestica</i>	17.0000a	40.0000a	142.3333f	145.3333f	150.0000g
<i>Anacardium occidentale</i>	25.0000a	76.0000cde	185.6667gh	130.6667f	192.0000h
Jenis Perlakuan	Purata Populasi Actinomycetes ( $10^4$ CFUg <sup>-1</sup> tanah)				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	4.0000a	5.3333a	32.0000e	34.3333f	35.0000f
<i>Manihot esculenta</i>	8.3333b	11.0000c	61.3333g	75.0000i	14.6667e
<i>Curcuma domestica</i>	8.6667b	11.0000c	68.6667h	69.6667h	75.0000i
<i>Anacardium occidentale</i>	18.3333d	19.3333d	98.0000j	98.3333j	100.0000k
Jenis Perlakuan	Purata Populasi Jamur ( $10^4$ CFUg <sup>-1</sup> tanah)				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	143.3333n	30.3333g	23.0000f	11.6667d	2.0000a
<i>Manihot esculenta</i>	204.6667n	60.3333k	34.3333h	14.6667e	4.3333b
<i>Curcuma domestica</i>	217.6667o	62.0000k	38.3333i	15.6667e	6.3333c
<i>Anacardium occidentale</i>	323.000p	75.0000l	45.3333j	30.6667g	8.0000c

Keterangan : purata yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata dalam satu kolom

Lampiran 6. Hasil Ringkasan Uji DMR Taraf 5% Potensial Nitrifikasi

Jenis Perlakuan	Potensial Nitrifikasi ( $\text{mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ jam}^{-1}$ )				
	Waktu Inkubasi (hari)				
	0	5	10	15	20
Kontrol	1.5050e	4.9979h	2.5063d	0.7416c	0.4715ab
<i>Manihot esculenta</i>	1.1454g	4.5665j	1.0380ef	0.4255d	0.059ab
<i>Curcuma domestica</i>	1.1178f	3.2895i	1.0059e	0.0386a	0.0402a
<i>Anacardium occidentale</i>	0.1585c	1.4746g	0.1445bc	0.1173abc	0.0302a

Keterangan : purata yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata dalam satu kolom

Lampiran 7. Hasil Ringkasan Uji F

No	Variabel yang diamati	P	F hitung
1	Potensial Nitrifikasi	0.000	343.43
2	Populasi Bakteri pengoksidasi $\text{NH}_4^+$	0.000	382.65
3	Populasi Bakteri pengoksidasi $\text{NO}_2^-$	0.000	200.64
4	Populasi Bakteri heterotrof	0.000	3.56
5	Populasi <i>Actinomyces</i>	0.000	355.84
6	Populasi Jamur	0.000	2078.63

Keterangan:  $P > 0.05$  = berpengaruh tidak nyata  
 $0.01 < P < 0.05$  = berpengaruh sangat nyata  
 $P < 0.01$  = berpengaruh sangat nyata

Lampiran 8. Ringkasan Hasil Uji Korelasi Kualitas Seresah (Nisbah C/N, Polifenol, Lignin, Nisbah (P+L)/N) dengan Potensial Nitrifikasi, Bakteri Nitrifikasi dan Mikrobial Heterotrof

	Lignin		Polifenol		Nisbah C/N		Nisbah (P+L)/N	
	r	P	r	P	r	P	r	P
Potensial nitrifikasi								
Bakteri $\text{NH}_4^+$								
Bakteri $\text{NO}_2^-$								
Bakteri Heterotrof								
Actinomyces								
Fungi								

Lampiran 9. Ringkasan Hasil Uji Korelasi Potensial Nitrifikasi, Bakteri Nitrifikasi, dan Mikrobial Heterotrof dengan pH, Kelembaban, dan Suhu

	pH		Kelembaban		Suhu	
	r	P	r	P	r	P
Potensial nitrifikasi	0.580	0.023	-0.326	0.236	-0.426	0.113
Bakteri $\text{NH}_4^+$	0.196	0.407	0.239	0.311	0.446	0.049
Bakteri $\text{NO}_2^-$	0.636	0.003	0.599	0.005	0.804	0.000
Bakteri Heterotrof	0.699	0.002	0.477	0.000	0.850	0.000
Actinomycetes	0.710	0.000	0.786	0.000	0.898	0.000
Fungi	-0.548	0.012	-0.637	0.002	-0.548	0.008

Lampiran 10. Estimasi Kehilangan N Karena Nitrifikasi di Alfisols Jumantono

- Aplikasi pupuk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dalam penelitian adalah 0.072 gram/0.8 kg tanah  
 = 0.072 gram  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  mengandung 21% N  
 =  $21/100 \times 0.072$  gram N/0.8 kg tanah  
 = 0.01512 gram N/0.8 kg tanah  
 = 15.12 mg N/0.8 kg tanah  
 = 18.9 mg N/kg tanah  
 = 18.9 ppm
  - a. Rerata potensial nitrifikasi **tanpa perlakuan seresah** selama 20 hari inkubasi:  
 =  $2.04446 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ jam}^{-1}$   
 = 2.04446ppb/jam  
 = 0.002044 ppm/jam  
 = 0.04907ppm/hari  
 = 17.91ppm/tahun  
 Maka estimasi hilangnya N dari pemberian pupuk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  adalah:  
 =  $17.91\text{ppm}/18.9\text{ppm}/\text{tahun} \times 100\%$   
 = 94.76%/tahun  
 Maka kehilangan N dari 200kg/ha/tahun pupuk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  adalah:  
 =  $94.76\%/ \text{tahun} \times 200 \text{ kg/ha/tahun}$   
 = **189.53kg/ha/tahun**
  - b. Rerata potensial nitrifikasi pada perlakuan seresah *Manihot esculenta* selama 20 hari inkubasi dosis takaran seresah 2.25 gram/0.8 kg tanah adalah:

$$= 1.4400 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ jam}^{-1}$$

$$= 1.4400 \text{ ppb/jam}$$

$$= 0.00144 \text{ ppm/jam}$$

$$= 0.03456 \text{ ppm/hari}$$

$$= 12.61 \text{ ppm/tahun}$$

Maka estimasi hilangnya N dari pemberian pupuk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  adalah:

$$= 12.61/18.9 \times 100\%$$

$$= 66.71\%/tahun$$

Maka kehilangan N dari 200kg/ha/tahun adalah:

$$= 66.71\% \times 200 \text{ kg/ha/tahun}$$

$$= \mathbf{133.44 \text{ kg/ha/tahun}}$$

- c. Rerata potensial nitrifikasi pada perlakuan seresah *Curcuma domestica* selama 20 hari inkubasi, dosis takaran seresah 2.25 gram/0.8 kg tanah adalah  $= 1.1022 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ jam}^{-1}$

$$= 1.1022 \text{ ppb/jam}$$

$$= 0.001102 \text{ ppm/jam}$$

$$= 0.02448 \text{ ppm/hari}$$

$$= 9.65 \text{ ppm/tahun}$$

Maka estimasi hilangnya N dari pemberian pupuk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  adalah:

$$= 9.65/18.9 \times 100\%$$

$$= 51.05\%/tahun$$

Maka kehilangan N dari 200kg/ha/tahun adalah:

$$= 51.05\% \times 200 \text{ kg/ha/tahun}$$

$$= \mathbf{102.12 \text{ kg/ha/tahun}}$$

- d. Rerata potensial nitrifikasi pada perlakuan seresah *Anacardium occidentale* selama 20 hari inkubasi, dosis takaran seresah 2.25 gram/0.8 kg tanah adalah:

$$= 0.16402 \text{ mg NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ jam}^{-1}$$

$$= 0.16402 \text{ ppb/jam}$$

$$= 0.000164 \text{ ppm/jam}$$

$$= 0.003936 \text{ ppm/hari}$$

$$= 1.44 \text{ ppm/tahun}$$

Maka estimasi hilangnya N dari pemberian pupuk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  adalah:

$$= 1.44 \text{ ppm}/18.9 \text{ ppm/tahun} \times 100\%$$

$$= 7.62\%/tahun$$

Maka kehilangan N dari 200kg/ha/tahun pupuk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  adalah:

$$\begin{aligned} &= 7.62\%/tahun \times 200 \text{ kg/ha/tahun} \\ &= \mathbf{15.24 \text{ kg/ha/tahun}} \end{aligned}$$

## Lampiran 10. Analisa Statistika

Analysis of Variance for **Bakteri\_NH4**, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	25146.8	25146.8	8382.3	1.1E+04	0.000 **
I	4	479.9	479.9	120.0	153.17	0.000 **
A*I	12	3596.9	3596.9	299.7	382.65	0.000 **
Error	40	31.3	31.3	0.8		
Total	59	29254.9				

Least Squares Means for B\_NH4

A	Mean	SE Mean
0	77.47	0.2285
1	32.53	0.2285
2	24.07	0.2285
3	38.47	0.2285
I		
0	38.08	0.2555
1	45.92	0.2555
2	45.42	0.2555
3	44.00	0.2555
4	42.25	0.2555
A*I		
0 0	54.33	0.5110
0 1	68.67	0.5110
0 2	84.33	0.5110
0 3	84.33	0.5110
0 4	95.67	0.5110
1 0	33.33	0.5110
1 1	40.67	0.5110
1 2	32.00	0.5110
1 3	32.67	0.5110
1 4	24.00	0.5110
2 0	24.33	0.5110
2 1	29.00	0.5110
2 2	26.33	0.5110
2 3	24.00	0.5110
2 4	16.67	0.5110
3 0	40.33	0.5110
3 1	45.33	0.5110
3 2	39.00	0.5110
3 3	35.00	0.5110
3 4	32.67	0.5110

### B\_NH4

Duncan <sup>a</sup>		
		Subset for alpha = .05
I	N	1
.00	12	38.0833
4.00	12	42.2500
3.00	12	44.0000
2.00	12	45.4167
1.00	12	45.9167
Sig.		.464

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.



**B\_NH4**Duncan<sup>a</sup>

AI	N	Subset for alpha = .05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
10.0	3	6.6667												
5.00	3		4.0000											
9.00	3		4.0000											
6.00	3		4.3333											
8.00	3			6.3333										
7.00	3				9.0000									
3.00	3					2.0000								
4.00	3					2.6667								
15.0	3					2.6667								
1.00	3					3.3333								
14.0	3						5.0000							
13.0	3							9.0000						
11.0	3							0.3333	0.3333					
2.00	3								0.6667					
12.0	3									5.3333				
16.0	3										4.3333			
17.0	3											8.6667		
18.0	3												4.3333	
19.0	3												4.3333	
20.0	3													5.6667
Sig.		1.000	.668	1.000	1.000	.099	1.000	.072	.647	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

<sup>a</sup>Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.Analysis of Variance for **Bakteri\_NO2**, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	3586.61	3586.61	1195.54	4548.65	0.000 **
I	4	2950.88	2950.88	737.72	2806.80	0.000 **
A*I	12	632.82	632.82	52.74	200.64	0.000 **
Error	40	10.51	10.51	0.26		
Total	59	7180.83				

Least Squares Means for B\_NO2

A	Mean	SE Mean
0	4.253	0.1324
1	21.720	0.1324
2	14.813	0.1324
3	24.200	0.1324
I		
0	7.008	0.1480
1	10.367	0.1480
2	16.533	0.1480
3	20.842	0.1480
4	26.483	0.1480
A*I		
0 0	1.833	0.2960
0 1	1.667	0.2960
0 2	5.133	0.2960
0 3	5.700	0.2960
0 4	6.933	0.2960

1	0	9.267	0.2960
1	1	14.333	0.2960
1	2	20.667	0.2960
1	3	28.000	0.2960
1	4	36.333	0.2960
2	0	6.933	0.2960
2	1	9.133	0.2960
2	2	14.333	0.2960
2	3	19.000	0.2960
2	4	24.667	0.2960
3	0	10.000	0.2960
3	1	16.333	0.2960
3	2	26.000	0.2960
3	3	30.667	0.2960
3	4	38.000	0.2960

**B\_NO2**Duncan<sup>a</sup>

AI	N	Subset for alpha = .05													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
17.0	3	.6667													
16.0	3	.8333													
18.0	3		.1333												
19.0	3		.7000												
6.00	3			.9333											
20.0	3			.9333											
7.00	3				.1333										
1.00	3				.2667										
11.0	3				.0000										
2.00	3					.3333									
8.00	3					.3333									
12.0	3						.3333								
9.00	3							.0000							
3.00	3								.6667						
10.0	3									.6667					
13.0	3										.0000				
4.00	3											.0000			
14.0	3												.6667		
5.00	3													.3333	
15.0	3														.0000
Sig.		.693	.183	1.000	.056	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

<sup>a</sup>Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**B\_NO2**Duncan<sup>a</sup>

I	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
.00	12	7.0083			
1.00	12	10.3667	10.3667		
2.00	12		16.5333	16.5333	
3.00	12			20.8417	20.8417
4.00	12				26.4833
Sig.		.352	.091	.234	.121

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

Analysis of Variance for **Bakteri\_Hetero**, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	47754	47754	15918	29.13	0.000 **
I	4	130086	130086	32521	59.51	0.000 **
A*I	12	23374	23374	1948	3.56	0.001 **
Error	40	21861	21861	547		
Total	59	223074				

Least Squares Means for B\_Hetero

A	Mean	SE Mean
0	44.667	6.036
1	99.000	6.036
2	121.867	6.036
3	81.333	6.036
I		
0	16.000	6.749
1	46.667	6.749
2	118.583	6.749
3	118.833	6.749
4	133.500	6.749
A*I		
0 0	7.333	13.497
0 1	31.333	13.497
0 2	34.333	13.497
0 3	78.667	13.497
0 4	71.667	13.497
1 0	17.000	13.497
1 1	40.333	13.497
1 2	142.333	13.497
1 3	145.333	13.497
1 4	150.000	13.497
2 0	25.000	13.497
2 1	76.000	13.497
2 2	185.667	13.497
2 3	130.667	13.497
2 4	192.000	13.497
3 0	14.667	13.497
3 1	39.000	13.497
3 2	112.000	13.497
3 3	120.667	13.497
3 4	120.333	13.497

**B\_HETERO**Duncan<sup>a</sup>

AI	N	Subset for alpha = .05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
16.00	3	7.3333							
11.00	3	14.6667							
1.00	3	17.0000							
6.00	3	25.0000							
17.00	3	31.3333	31.3333						
18.00	3	34.3333	34.3333	34.3333					
12.00	3	39.0000	39.0000	39.0000	39.0000				
2.00	3	40.3333	40.3333	40.3333	40.3333				
20.00	3		71.6667	71.6667	71.6667	71.6667			
7.00	3			76.0000	76.0000	76.0000			
19.00	3				78.6667	78.6667			
13.00	3					12.0000	12.0000		
15.00	3						20.3333		
14.00	3						20.6667		
9.00	3						30.6667		
3.00	3						42.3333		
4.00	3						45.3333	45.3333	
5.00	3						50.0000	50.0000	
8.00	3							85.6667	85.6667
10.00	3								92.0000
Sig.		.146	.065	.056	.069	.059	.091	.051	.742

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**B\_HETERO**Duncan<sup>a</sup>

I	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	12	16.0000	
1.00	12	46.6667	
2.00	12		118.5833
3.00	12		118.8333
4.00	12		133.5000
Sig.		.073	.408

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

Analysis of Variance for **Actino**, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	15025.6	15025.6	5008.5	4232.58	0.000
I	4	48545.1	48545.1	12136.3	1.0E+04	0.000
A*I	12	5052.9	5052.9	421.1	355.84	0.000
Error	40	47.3	47.3	1.2		
Total	59	68671.0				

Least Squares Means for Actino

A	Mean	SE Mean
0	22.133	0.2809
1	46.600	0.2809
2	66.800	0.2809
3	46.400	0.2809
I		
0	9.833	0.3140
1	11.667	0.3140
2	65.000	0.3140
3	69.333	0.3140
4	71.583	0.3140
A*I		
0 0	4.000	0.6280
0 1	5.333	0.6280
0 2	32.000	0.6280
0 3	34.333	0.6280
0 4	35.000	0.6280
1 0	8.667	0.6280
1 1	11.000	0.6280
1 2	68.667	0.6280
1 3	69.667	0.6280
1 4	75.000	0.6280
2 0	18.333	0.6280
2 1	19.333	0.6280
2 2	98.000	0.6280
2 3	98.333	0.6280
2 4	100.000	0.6280
3 0	8.333	0.6280
3 1	11.000	0.6280
3 2	61.333	0.6280
3 3	75.000	0.6280
3 4	76.333	0.6280

## ACTINO

Duncan

AI	N	Subset for alpha = .05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
16.00	3	4.0000										
17.00	3	5.3333										
11.00	3		8.3333									
1.00	3		8.6667									
2.00	3			11.0000								
12.00	3			11.0000								
6.00	3				18.3333							
7.00	3				19.3333							
18.00	3					32.0000						
19.00	3						34.3333					
20.00	3						35.0000					
13.00	3							61.3333				
3.00	3								68.6667			
4.00	3								69.6667			
5.00	3									75.0000		
14.00	3									75.0000		
15.00	3									76.3333		
8.00	3										98.0000	
9.00	3										98.3333	98.3333
10.00	3											00.0000
Sig.		.141	.709	1.000	.267	1.000	.457	1.000	.267	.164	.709	.068

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Analysis of Variance for **Fungi**, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	22404	22404	7468	5744.66	0.000
I	4	376592	376592	94148	7.2E+04	0.000
A*I	12	32427	32427	2702	2078.63	0.000
Error	40	52	52	1		
Total	59	431475				

Least Squares Means for Fungi

A	Mean	SE Mean
0	42.133	0.2944
1	68.000	0.2944
2	96.400	0.2944
3	63.667	0.2944
I		
0	222.167	0.3291
1	56.917	0.3291
2	35.250	0.3291
3	18.167	0.3291
4	5.250	0.3291
A*I		
0 0	143.333	0.6583
0 1	30.333	0.6583
0 2	23.000	0.6583
0 3	11.667	0.6583
0 4	2.333	0.6583
1 0	217.667	0.6583

1	1	62.000	0.6583
1	2	38.333	0.6583
1	3	15.667	0.6583
1	4	6.333	0.6583
2	0	323.000	0.6583
2	1	75.000	0.6583
2	2	45.333	0.6583
2	3	30.667	0.6583
2	4	8.000	0.6583
3	0	204.667	0.6583
3	1	60.333	0.6583
3	2	34.333	0.6583
3	3	14.667	0.6583
3	4	4.333	0.6583

### FUNGI

Duncan<sup>a</sup>

AI	N	Subset for alpha = .05															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
20.0	3	.3333															
15.0	3		.3333														
5.00	3			.3333													
10.0	3			.0000													
19.0	3				.6667												
14.0	3					.6667											
4.00	3					.6667											
18.0	3						.0000										
17.0	3							.3333									
9.00	3							.6667									
13.0	3								.3333								
3.00	3									.3333							
8.00	3										.3333						
12.0	3											.3333					
2.00	3											.0000					
7.00	3												.0000				
16.0	3													.3333			
11.0	3														.6667		
1.00	3															.6667	
6.00	3																.0000
Sig.		1.000	1.000	.081	1.000	.289	1.000	.722	1.000	1.000	1.000	.081	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

<sup>a</sup>Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Analysis of Variance for **Potensial-Nitrifikasi**, using Adjusted SS for Tests

SK	db	JK		RK/KT	F hitung	Probability
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	10.6522	10.6522	3.5507	1183.14	0.000 **
I	4	58.1703	58.1703	14.5426	4845.76	0.000 **
A*I	12	12.3680	12.3680	1.0307	343.43	0.000 **
Error	40	0.1200	0.1200	0.0030		
Total	59	81.3105				

Least Squares Means for Pot-Nt

Perluk Rata-rata

A	Mean	SE Mean
0	0.68210	0.01414
1	1.49927	0.01414
2	1.09841	0.01414
3	0.38500	0.01414
I		
0	0.92070	0.01581
1	2.78392	0.01581
2	0.63802	0.01581
3	0.19411	0.01581
4	0.04422	0.01581
A*I		
0 0	0.99117	0.03163
0 1	1.80510	0.03163
0 2	0.36370	0.03163
0 3	0.19497	0.03163
0 4	0.05557	0.03163
1 0	1.41537	0.03163
1 1	4.56650	0.03163
1 2	1.03803	0.03163
1 3	0.42550	0.03163
1 4	0.05093	0.03163
2 0	1.11780	0.03163
2 1	3.28950	0.03163
2 2	1.00590	0.03163
2 3	0.03863	0.03163
2 4	0.04023	0.03163
3 0	0.15847	0.03163
3 1	1.47457	0.03163
3 2	0.14447	0.03163
3 3	0.11733	0.03163
3 4	0.03017	0.03163



## POT\_NITR

Duncan

AI	N	Subset for alpha = .05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
15.0	3	.0302											
9.00	3	.0386											
10.0	3	.0402											
5.00	3	.0509	.0509										
14.0	3	.1173	.1173	.1173									
13.0	3		.1445	.1445									
11.0	3			.1585									
4.00	3				.4255								
20.0	3				.4715								
19.0	3					.7416							
8.00	3						1.0059						
3.00	3						1.0380	1.0380					
6.00	3							1.1178					
1.00	3								1.4154				
12.0	3								1.4746				
16.0	3								1.5050				
18.0	3									2.5063			
7.00	3										3.2895		
2.00	3											4.5665	
17.0	3												4.9979
Sig.		.093	.057	.399	.317	1.000	.483	.086	.068	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

aUses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## Correlations: C, N, C/N, Poli, Lignin, (P+L)/N, PotNitri, B\_NH4, B\_NO2, B\_hetero

	C	N	C/N	Poli	Lignin	(P+L)/N	PotNitri
B_NH4							
N	0.950 0.000						
C/N	0.824 0.000	0.615 0.004					
Poli	0.567 0.009	0.339 0.143	0.867 0.000				
Lignin	0.804 0.000	0.649 0.002	0.914 0.000	0.933 0.000			
(P+L)/N	0.634 0.003	0.427 0.060	0.892 0.000	0.987 0.000	0.959 0.000		
PotNitri	-0.308 0.187	-0.206 0.385	-0.386 0.093	-0.378 0.101	-0.386 0.093	-0.394 0.085	
B_NH4	-0.903 0.000	-0.810 0.000	-0.883 0.000	-0.656 0.002	-0.827 0.000	-0.720 0.000	0.376 0.102

B_NO2 -0.552 0.012	0.591 0.006	0.646 0.002	0.323 0.165	0.091 0.704	0.337 0.146	0.155 0.515	-0.450 0.047
B_hetero -0.473 0.035	0.463 0.040	0.332 0.153	0.530 0.016	0.459 0.042	0.489 0.029	0.430 0.058	-0.585 0.007
Actino -0.439 0.053	0.433 0.056	0.318 0.172	0.479 0.033	0.413 0.071	0.454 0.045	0.387 0.092	-0.651 0.002
Fungi -0.235 0.319	0.144 0.545	0.135 0.569	0.201 0.395	0.214 0.365	0.220 0.352	0.275 0.241	-0.015 0.951
pH -0.206 0.384	0.196 0.407	0.112 0.638	0.221 0.349	0.211 0.371	0.217 0.359	0.180 0.448	-0.582 0.007
Klmbn -0.164 0.490	0.239 0.311	0.149 0.532	0.246 0.295	0.198 0.402	0.209 0.377	0.150 0.527	-0.441 0.051
SuhuT -0.393 0.086	0.446 0.049	0.424 0.062	0.336 0.148	0.309 0.185	0.427 0.060	0.296 0.205	-0.538 0.014
	B_NO2	B_hetero	Actino	Fungi	pH	Klmbn	
B_hetero	0.677 0.001						
Actino	0.718 0.000	0.969 0.000					
Fungi	-0.445 0.049	-0.585 0.007	-0.548 0.012				
pH	0.636 0.003	0.699 0.001	0.710 0.000	-0.548 0.012			
Klmbn	0.599 0.005	0.777 0.000	0.786 0.000	-0.637 0.002	0.837 0.000		
SuhuT	0.804 0.000	0.850 0.000	0.898 0.000	-0.578 0.008	0.654 0.002	0.717 0.000	
Cell Contents: Pearson correlation P-Value							

## LAMPIRAN 12. Foto Selama Kegiatan Penelitian



Gambar Lampiran 1. Pengumpulan seresah tanaman yang berpotensi sebagai pengendali nitrifikasi oleh peneliti (Widaningsih)



Gambar Lampiran 2. Seresah tanaman jambu mete (*Anacardium occidentale*)



Gambar Lampiran 3. Seresah tanaman *Curcuma domestica*



Gambar Lampiran 4. Seresah tanaman *Manihot esculenta*





Gambar Lampiran 5. Penempatan Pot Perlakuan Pada Rumah Kaca



Gambar Lampiran 6. Perubahan warna medium dari biru menjadi orange dan kuning pada penghitungan populasi bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  dengan metoda (MPN) Most Probable Number



Gambar Lampiran 7. Penyiapan seri pengenceran tanah untuk penghitungan populasi mikroba heterotrof tanah (bakteri, fungi dan actinomycetes)



Gambar Lampiran 8. Inkubasi ekstrak tanah setelah penambahan larutan  $\text{NH}_4^+$  dalam *Rotatory Shaker* selama 5 jam untuk pengukuran nitrifikasi potensial tanah.

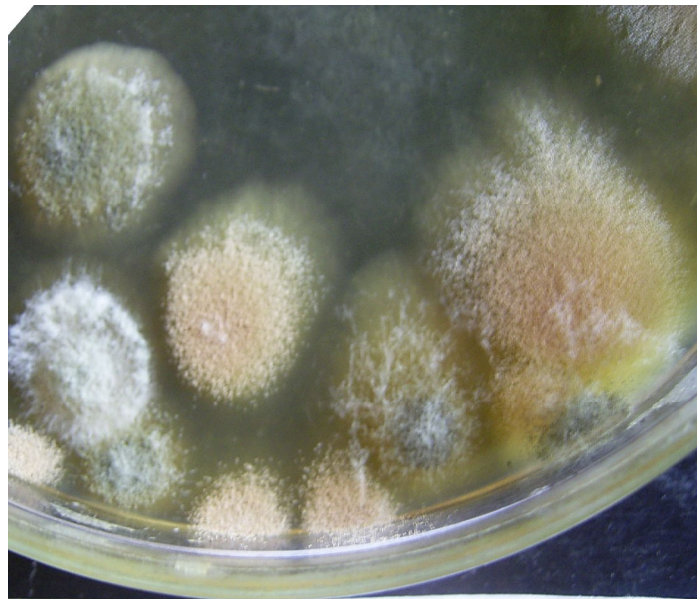


Gambar Lampiran 9. Ekstraksi dan penyaringan tanah setelah inkubasi sebelum pengukuran nitrifikasi potensial tanah (konsentrasi  $\text{NO}_2^-$ ) dengan metode spektrofotometri

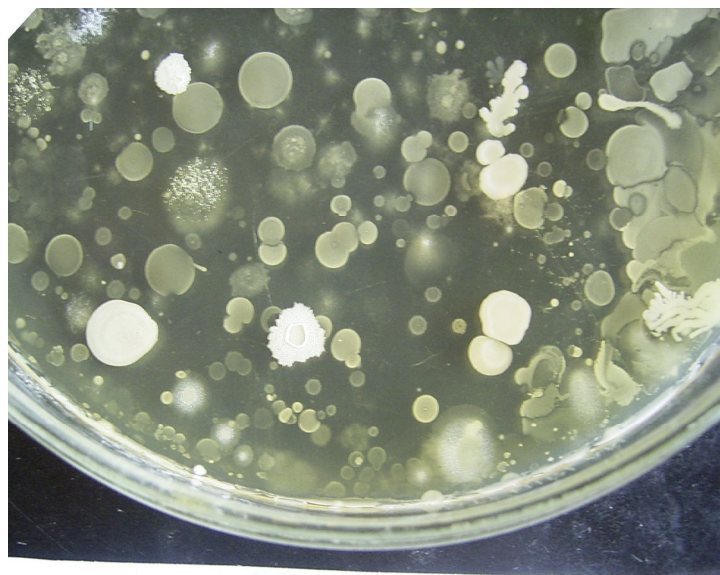


Gambar Lampiran 10. Pertumbuhan actinomycetes dengan fungi pada medium AIA





Gambar Lampiran 11. Pertumbuhan fungi pada medium Potato Dextrose Agar.



Pertumbuhan Isolat Bakteri Perlakuan A. o.

Gambar Lampiran 12. Pertumbuhan bakteri pada perlakuan seresah Jambu Mete (*Anacardium occidentale*) pada medium Nutrient Agar.



LAMPIRAN 13. Metode *Berg and Rosswall*, 1985 (potensi nitrifikasi) dan *Most Probable Number* (MPN) untuk Bakteri Nitrifikasi

**PENGUKURAN POTENSIAL NITRIFIKASI TANAH**

**Prinsip :**

Setelah ditambah amonium sulfat  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  sebagai substrat nitrifikasi, sampel tanah diinkubasikan selama 5 hari pada  $25^\circ\text{C}$ . Nitrit yang dibebaskan selama inkubasi diekstrak dengan potasium chlorat (KCl) dan ditentukan secara kolorimetrik pada  $\lambda$  520 nm. Sodium chlorat ( $\text{NaClO}_3$ ) akan menghambat oksidasi nitrit menjadi nitrat selama inkubasi. Metode ini dikembangkan oleh Berg and Rosswald (1985) dan telah dimodifikasi.

**Bahan dan alat :**

Disamping peralatan laboratorium pokok : 100 ml Labu Erlenmeyer dengan tutup.

**Bahan kimia & reagensia :**

1. *Larutan substrat induk (10mM)* : Larutkan 1.3214 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dalam aquadest kemudian encerkan sampai volume 1000 ml dengan aquadest dalam labu volumetrik.
2. *Larutan substrat kerja (1mM)* : Encerkan 100 ml larutan substrat kerja menjadi 1000 ml dengan aquadest dalam labu volumetrik
3. *Larutan sodium chlorat (1.5 M)* : larutkan 15.97 g  $\text{NaClO}_3$  dalam aquadest dan encerkan sampai volume 100 ml dengan aquadest dalam labu volumetrik.
4. *Larutan potassium chloride (2 M)* : Larutkan 149.12 g KCl dalam aquadest kemudian encerkan sampai volume 1000 ml dengan aquadest dalam labu volumetrik.
5. *Ammonium chlorida bufer (0.19 M, pH 8.5)* : Larutkan 10 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  dalam aquadest, atur pH sampai 8.5 dengan  $\text{NH}_4\text{OH}$  pekat, dan encerkan sampai volume 1000 ml dengan aquadest dalam labu volumetrik.
6. *Reagen pewarna* : larutkan 2 g sulfanilamide dan 0,1 g N-(1-naphthyl)-ethylenediamine hydrochloride dalam 150 ml aquadest, dan tambahkan 20 ml asam phosphoric ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) pekat. Dinginkan larutan pada suhu kamar dan encerkan sampai volume 200 ml dengan aquadest dalam labu volumetrik. Larutan ini tidak berwarna dan harus disiapkan setiap harinya.
7. *Larutan Standard induk* ( $1000 \mu\text{g NO}_2^- \text{N ml}^{-1}$ ) : Larutkan 4.9257 g  $\text{NaNO}_2$  dalam aquadest dan encerkan sampai volume 1000 ml dengan aquadest dalam labu volumetrik. Simpan larutan dalam  $4^\circ\text{C}$  tidak lebih dari 2 minggu.
8. *Larutan Standard kerja* ( $10 \mu\text{g NO}_2^- \text{N ml}^{-1}$ ) : encerkan 5 ml larutan standard induk menjadi 500 ml dengan aquadest dalam labu volumetrik.
9. *Standard kalibrasi* : pipet 0 (reagen blanko), 2, 4, 8 dan 10 ml larutan standard kerja dalam 100 ml labu volumetrik, tambahkan 20 ml larutan KCl (2 M), dan tambahkan sampai volume dengan aquadest. Standard kalibrasi mengandung 0, 0.2, 0.4, 0.8, dan  $1 \mu\text{g NO}_2^- \text{N ml}^{-1}$ .

**Prosedur :**

1. Timbang masing-masing 5 g sampel tanah lembab dan masukkan kedalam 3 buah labu erlenmeyer 100 ml. Tambahkan 20 ml larutan substrat kerja (1 mM) dan 0,1 ml larutan NaClO<sub>3</sub>, gojog sesaat lalu tutup tabung dengan penutupnya
2. Inkubasikan 2 labu (sampel) selama 5 jam pada *rotatory shaker*, dan simpan labu ketiga (sebagai kontrol) dalam freezer selama 5 jam pada -20°C
3. Sesudah waktu inkubasi, keluarkan labu kontrol dari freezer, cairkan pada suhu kamar, kemudian tambahkan ke dalam masing-masing labu sampel dan kontrol 5 ml larutan KCl, gojog sesaat dan secepatnya saringlah sampel dan kontrol tersebut.
4. Untuk analisis fotometrik, pipetlah 5 ml filtrat, 3 ml amonium chloride buffer dan 2 ml reagen pewarna kedalam tabung test, aduk dan biarkan selama 15 menit pada suhu kamar. Ukurlah sampel dan kontrol pada  $\lambda$  520 nm dan bandingkan dengan blangko. Untuk membuat kurva kalibrasi, perlakukan 5 ml standard kalibrasi seperti filtrat tanah.

**Hasil dan Perhitungan :**

Hitunglah  $\mu\text{g N}$  larutan test dari kurva kalibrasi. Ekspresikan nitrifikasi potensial sebagai jumlah NO<sub>2</sub><sup>-</sup> - N yang dibebaskan dari 1 g tanah selama 5 jam inkubasi

$$\frac{(S-C). 25.1 \ 1000 \ 100}{5.5.\% \text{dm}} = \text{ng N.g}^{-1} \text{ dm. } 5 \text{ h}^{-1}$$

S	=	Nilai rata-rata sampel (mg N)
C	=	Kontrol (mg N)
25.1	=	Volume ekstrak (ml)
1000	=	Faktor konversi (1 mg N = 1000 ng N)
5	=	Aliquot filtrat (ml)
5	=	Bobot tanah semula (g)
100.% <sup>-1</sup> dm	=	Faktor untuk soil dry matter

**Catatan :**

1. Metode ini dikembangkan untuk tanah pertanian subur (*arable soil*), namun dengan sedikit modifikasi juga dapat digunakan pada tanah-tanah hutan.
2. Metode ini mempunyai keterbatasan untuk tanah-tanah masam karena nitrifikasi potensial pada tanah-tanah dengan pH dibawah 5 sangat rendah.
3. Transport dan simpan sampel tanah sesudah pengambilan sampel pada 4° C. Hindari penyimpanan dalam waktu lama.

## PENGHITUNGAN POPULASI BAKTERI NITRIFIKASI DENGAN METODE JUMLAH PERKIRAAN TERDEKAT (MOST PROBABLE NUMBER)

### Prinsip :

Bakteri nitrifikasi bersifat khemoautotrof, maka untuk penghitungan jumlahnya digunakan medium hara mineral murni (tidak boleh sedikitpun tercemar senyawa organik) yang diperkaya dengan  $\text{NH}_4^+$  dan atau nitrit  $\text{NO}_2^-$  sebagai sumber energi. Masing-masing medium tersebut kemudian diinokulasi dengan satu seri pengenceran tanah dan selanjutnya diinkubasikan selama 4 – 5 minggu. Setelah masa inkubasi, adanya pertumbuhan bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  ditandai dengan perubahan warna medium dari biru menjadi biru kehijauan dan selanjutnya kuning sampai tidak berwarna akibat pengasaman media. Pertumbuhan bakteri pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  ditandai dengan uji negatif beradaan  $\text{NO}_2^-$  dalam medium. Dari kriteria tersebut kemudian dihitung jumlah perkiraan terdekat (MPN)nya menggunakan tabel MPN Hoskins.

### Bahan dan alat yang digunakan:

1. Berbagai peralatan baku di laboratorium,
2. Dispenset, pipet 10 ml semi otomatis (Brand) yang tersambung pada botol berisi akuades,
3. Piston-stroke pipet (0.1 dan 1 ml),
4. Pipet tips dalam rak yang tahan diotoklaf,
5. Botol 250 ml dengan tutup berulir yang tahan otoklaf yang telah diisi dengan 95 ml larutan pendispersi sodium polifosfat ( $\text{NaPO}_3$ )<sub>n</sub> yang akan menyusut menjadi 90 ml setelah diotoklaf,
6. Tabung reaksi 12 ml dengan tutup ulir aluminium yang tahan otoklaf,
7. Labu 100 ml bertutup aluminium foil yang tahan sterilisasi udara panas (oven),
8. Petridish gelas steril atau petridish plastik *disposable*,
9. Test plate
10. Kaca pembesar, mikroskop dissecting atau colony counter.

### Bahan kimia dan reagen:

**Larutan pendispersi (0.2%):** Larutkan 1 g ( $\text{NaPO}_3$ )<sub>n</sub>, kemudian encerkan dengan akuades sampai volume 1000 ml dalam labu volumetrik

### Pembuatan medium:

Siapkan beberapa larutan induk sebagai berikut, yang masing-masing disimpan dalam botol berwarna gelap:

1. **Larutan Fe-khelat (10 mM):** Timbang 5 g Titriplex III (Merck 8418) dan 2.78 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , larutkan dan encerkan dengan akuades sampai volume 1000 ml dalam labu volumetrik. 1 ml larutan induk Fe-khelat dalam 1000 ml larutan hara mengandung 10  $\mu\text{M}$   $\text{FeSO}_4$ .
2. **Larutan induk hara mikro:** Larutkan 500 mg Titriplex III (Merck 8418) dalam 800 ml akuades dalam labu volumetrik 1000 ml. Tambahkan dan larutkan berturut-turut beberapa senyawa tersebut di bawah kemudian encerkan dengan akuades sampai volume 1000 ml. 1 ml larutan induk hara mikro ini dalam 1000 ml larutan hara mempunyai konsentrasi:

Senyawa	mg 1000 ml <sup>-1</sup> akuades	$\mu\text{M}$ dalam larutan hara setelah pengenceran
$\text{H}_3\text{BO}_3$	618	10
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1210	5
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	238	1
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	198	1
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	250	1
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	144	0.5
$\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	140	0.5

3. **Larutan induk hara makro:** Sesuai tabel di bawah, siapkan masing-masing secara terpisah 250 ml larutan hara makro, 250 ml larutan induk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan 250 ml larutan induk  $\text{KNO}_3$ . 10 ml dari larutan induk dalam 1000 ml larutan hara mempunyai konsentrasi sbb:

Senyawa	g dalam 250 ml <sup>-1</sup> akuades	mM dalam larutan hara setelah pengenceran
<i>Larutan induk Hara Makro:</i>		
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	4.354	1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.232	0.2
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.368	0.1
<i>Larutan induk <math>(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4</math> utk bakteri pengoksidasi amonium:</i>		
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	13.213	4
<i>Larutan induk <math>\text{KNO}_3</math> utk bakteri pengoksidasi nitrit:</i>		
$\text{KNO}_2$	0.426	0.2

4. **Media hara:** Medium pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  dibuat dengan cara sbb. Pipet 10 ml larutan induk hara makro ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$  dan  $\text{CaCl}_2$ ), 1 ml larutan induk Fe khelat dan 1 ml larutan induk hara mikro ke dalam labu 1000 ml yang telah terisi 800 ml akuades. Aduk pada setiap masing-masing penambahan, dan setelah itu tambahkan 10 ml larutan induk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan 20 mg bromothymol blue. Medium pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  dibuat sebagaimana medium pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  namun  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ nya digantikan dengan penambahan 10 ml larutan induk  $\text{KNO}_2$ . Encerkan masing-masing medium tersebut dengan akuades sampai volume 1000 ml. Setelah disterilisasi dengan otoklaf selama 15 menit pada tekanan 15 psi-121°C, atur pHnya sampai 7,3 – 7,5 dengan menambahkan 1,5 – 2 ml larutan 0,5 M sodium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) steril per 1000 ml medium. Medium pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  akan berubah warna menjadi biru karena peningkatan pH (karbonat juga berfungsi sebagai sumber karbon bagi bakteri nitrifikasi kemoautotrof).

#### Pengujian Nitrit ( $\text{NO}_2^-$ )

- Larutan A** (reagen Diazotik): Larutkan 0,5 g sulfanilamide dalam 100 ml 2,4 M hydrochloric acid (HCl), kemudian disimpan dalam botol berwarna gelap.
- Larutan B** (reagen penggabung): Larutkan 0,3 g N-(naphthyl)-ethylenediamine hydrochloride dalam 100 ml 0,12 M hydrochloric acid (HCl), kemudian disimpan dalam botol berwarna gelap.
- Prosedur:** Pindahkan 0,1 ml larutan dari tabung biakan yang telah diinkubasikan ke spot plate dengan menggunakan pipet piston-stroke. Tambahkan 1 tetes larutan A dan diikuti 1 tetes larutan B. Warna merah menunjukkan adanya nitrit dalam larutan. Bilaslah pipet tip sebelum digunakan untuk menguji tabung yang lain. Sebagai pengganti dapat juga digunakan test strip pendeteksi nitrit Merck 10007.

#### Prosedur penyiapan suspensi tanah

- Selama melakukan analisis jagalah agar tabung dan peralatan steril yang digunakan tidak terkontaminasi dan hindarilah kontak dengan benda-benda yang tidak steril,
- Timbang tanah seberat ekuivalen dengan 10 g tanah kering oven pada beaker steril menggunakan spatel steril (cuci dalam alkohol dan bakar di atas nyala api bunsen) → oleh karenanya harus diketahui dulu kadar lengas kering anginnnya !,

3. Pindahkan sampel tanah tersebut ke dalam botol 250 ml yang berisi 90 ml larutan pendispersi ( $\text{NaPO}_3$ )<sub>n</sub> (pengenceran 10-1) dan gojog selama 30 menit pada 50 rpm pada mechanical shaker.

#### Penyiapan seri pengenceran

Siapkan sejumlah tabung steril 12 ml bertutup (atau tabung reaksi steril bertutup kapas), kemudian diisi 9 ml air steril (air blangko) memakai dispenset dan selanjutnya tabung ditutup kembali.

#### Seri pengenceran

1. Gojoglah suspensi tanah (pengenceran  $10^{-1}$ ), dan pindahkan 1 ml suspensi tanah memakai tip pipet steril yang tersambung dengan piston-stroke pipette 1 ml ke dalam masing-masing 9 ml air blangko. Kemudian kencangkan tutup tabung biakan (tutup kapas) dan gojoglah agar tercampur homogen (pengenceran  $10^{-3}$ ),
2. Lanjutkan seri pengenceran sesuai dengan perkiraan jumlah bakteri yang akan dihitung. Untuk menghitung populasi bakteri nitrifikasi yang tinggi pada kompos dan tanah rhizosfer biasanya dibutuhkan seri pengenceran sampai  $10^{-9}$ . Buatlah seri pengenceran sesuai dengan perkiraan kerapatan bakteri nitrifikasi pada masing-masing sampel.

#### Inokulasi tabung biakan dan inkubasinya

1. Inokulasikan masing-masing tabung biakan pengoksidasi amonium dan pengoksidasi nitrit dengan 0,1 ml aliquot dari masing-masing seri pengenceran tanah. Diawali dengan suspensi yang paling encer (misal  $10^{-6}$ ) sampai ke  $10^{-2}$ . Pemindahan 0,1 ml suspensi dari suatu pengenceran adalah untuk membuat seri pengenceran yang lebih tinggi berikutnya. Apabila digunakan tabung bertutup ulir hindarilah penutupan yang terlalu rapat. Inkubasikanlah masing-masing tabung biakan yang sudah diinokulasikan suspensi tanah tersebut selama 4 – 5 minggu pada suhu  $28^\circ\text{C}$  (suhu kamar).
2. Setelah akhir waktu inkubasi, catatlah jumlah tabung yang menunjukkan tanda pertumbuhan bakteri nitrifikasi. Pertumbuhan bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  ditandai dengan perubahan warna medium dari biru menjadi kuning akibat terjadinya pengasaman medium hara. Untuk menetapkan adanya pertumbuhan bakteri pengoksidasi nitrit ujilah ketidak beradaan nitrit pada larutan hara.
3. Dari jumlah tabung yang positif pada 3 seri pengenceran berturut-turut, hitung jumlah perkiraan terdekat bakteri pengoksidasi  $\text{NH}_4^+$  dan pengoksidasi  $\text{NO}_2^-$  dengan bantuan tabel MPN. Perhatikanlah faktor pengenceran dan perkiraan jumlah bakteri nitrifikasi per gram tanah kering angin.

#### Catatan:

Faktor teknis yang harus diperhatikan agar hasil pengukuran MPN bakteri nitrifikasi menjadi valid adalah: (1) seluruh peralatan gelas **harus diyakini bebas nitrit dan nitrat**, (2) dalam setiap batch pengujian perlu mengikutsertakan tabung-tabung kontrol (tanpa inokulasi), (3) butir (1) dan (2) yang menghasilkan tabung-tabung kontrol yang positif menyebabkan hasil yang diperoleh tidak valid.

Analysis of Variance for **Potensial-Nitrifikasi**, using Adjusted SS for Tests

SK	db	JK		RK/KT	F hitung	Probability
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	10.6522	10.6522	3.5507	1183.14	0.000 **
I	4	58.1703	58.1703	14.5426	4845.76	0.000 **
A*I	12	12.3680	12.3680	1.0307	343.43	0.000 **
Error	40	0.1200	0.1200	0.0030		
Total	59	81.3105				

Least Squares Means for Pot-Nt

PerlK Rata-rata

A	Mean	SE Mean
0	0.68210	0.01414
1	1.49927	0.01414
2	1.09841	0.01414
3	0.38500	0.01414
I		
0	0.92070	0.01581
1	2.78392	0.01581
2	0.63802	0.01581
3	0.19411	0.01581
4	0.04422	0.01581
A*I		
0 0	0.99117	0.03163
0 1	1.80510	0.03163
0 2	0.36370	0.03163
0 3	0.19497	0.03163
0 4	0.05557	0.03163
1 0	1.41537	0.03163
1 1	4.56650	0.03163
1 2	1.03803	0.03163
1 3	0.42550	0.03163
1 4	0.05093	0.03163
2 0	1.11780	0.03163
2 1	3.28950	0.03163
2 2	1.00590	0.03163
2 3	0.03863	0.03163
2 4	0.04023	0.03163
3 0	0.15847	0.03163
3 1	1.47457	0.03163
3 2	0.14447	0.03163
3 3	0.11733	0.03163
3 4	0.03017	0.03163

## POT\_NITR

Duncan<sup>a</sup>

AI	N	Subset for alpha = .05											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
15.0	3	.0302											
9.00	3	.0386											
10.0	3	.0402											
5.00	3	.0509	.0509										
14.0	3	.1173	.1173	.1173									
13.0	3		.1445	.1445									
11.0	3			.1585									
4.00	3				.4255								
20.0	3				.4715								
19.0	3					.7416							
8.00	3						1.0059						
3.00	3						1.0380	1.0380					
6.00	3							1.1178					
1.00	3								1.4154				
12.0	3								1.4746				
16.0	3								1.5050				
18.0	3									2.5063			
7.00	3										3.2895		
2.00	3											4.5665	
17.0	3												4.9979
Sig.		.093	.057	.399	.317	1.000	.483	.086	.068	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

<sup>a</sup>Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Analysis of Variance for **Bakteri\_NH4**, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	25146.8	25146.8	8382.3	1.1E+04	0.000 **
I	4	479.9	479.9	120.0	153.17	0.000 **
A*I	12	3596.9	3596.9	299.7	382.65	0.000 **
Error	40	31.3	31.3	0.8		
Total	59	29254.9				

Least Squares Means for B\_NH4

A	Mean	SE Mean
0	77.47	0.2285
1	32.53	0.2285
2	24.07	0.2285
3	38.47	0.2285
I		
0	38.08	0.2555
1	45.92	0.2555
2	45.42	0.2555
3	44.00	0.2555
4	42.25	0.2555
A*I		
0 0	54.33	0.5110
0 1	68.67	0.5110
0 2	84.33	0.5110
0 3	84.33	0.5110
0 4	95.67	0.5110
1 0	33.33	0.5110
1 1	40.67	0.5110
1 2	32.00	0.5110
1 3	32.67	0.5110
1 4	24.00	0.5110
2 0	24.33	0.5110
2 1	29.00	0.5110
2 2	26.33	0.5110
2 3	24.00	0.5110
2 4	16.67	0.5110
3 0	40.33	0.5110
3 1	45.33	0.5110
3 2	39.00	0.5110
3 3	35.00	0.5110
3 4	32.67	0.5110

### B\_NH4

Duncan<sup>a</sup>

A	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
2.00	15	24.0667		
1.00	15		32.5333	
3.00	15		38.4667	
.00	15			77.4667
Sig.		1.000	.063	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.



**B\_NH4**Duncan<sup>a</sup>

I	N	Subset for alpha = .05
		1
.00	12	38.0833
4.00	12	42.2500
3.00	12	44.0000
2.00	12	45.4167
1.00	12	45.9167
Sig.		.464

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

**B\_NH4**Duncan<sup>a</sup>

AI	N	Subset for alpha = .05												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
10.0	3	6.6667												
5.00	3		4.0000											
9.00	3		4.0000											
6.00	3		4.3333											
8.00	3			6.3333										
7.00	3				9.0000									
3.00	3					2.0000								
4.00	3					2.6667								
15.0	3					2.6667								
1.00	3					3.3333								
14.0	3						5.0000							
13.0	3							9.0000						
11.0	3							0.3333	0.3333					
2.00	3								0.6667					
12.0	3									5.3333				
16.0	3										4.3333			
17.0	3											8.6667		
18.0	3												4.3333	
19.0	3												4.3333	
20.0	3													5.6667
Sig.		1.000	.668	1.000	1.000	.099	1.000	.072	.647	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Analysis of Variance for **Bakteri\_NO2**, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	3586.61	3586.61	1195.54	4548.65	0.000 **
I	4	2950.88	2950.88	737.72	2806.80	0.000 **
A*I	12	632.82	632.82	52.74	200.64	0.000 **
Error	40	10.51	10.51	0.26		
Total	59	7180.83				

Least Squares Means for B\_NO2

A	Mean	SE Mean
0	4.253	0.1324
1	21.720	0.1324
2	14.813	0.1324
3	24.200	0.1324
I		
0	7.008	0.1480
1	10.367	0.1480
2	16.533	0.1480
3	20.842	0.1480
4	26.483	0.1480
A*I		
0 0	1.833	0.2960
0 1	1.667	0.2960
0 2	5.133	0.2960
0 3	5.700	0.2960
0 4	6.933	0.2960
1 0	9.267	0.2960
1 1	14.333	0.2960
1 2	20.667	0.2960
1 3	28.000	0.2960
1 4	36.333	0.2960
2 0	6.933	0.2960
2 1	9.133	0.2960
2 2	14.333	0.2960
2 3	19.000	0.2960
2 4	24.667	0.2960
3 0	10.000	0.2960
3 1	16.333	0.2960
3 2	26.000	0.2960
3 3	30.667	0.2960
3 4	38.000	0.2960

### B\_NO2

Duncan<sup>a</sup>

A	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.00	15	4.2533		
2.00	15		14.8133	
1.00	15			21.7200
3.00	15			24.2000
Sig.		1.000	1.000	.400

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

**B\_NO2**Duncan<sup>a</sup>

I	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
.00	12	7.0083			
1.00	12	10.3667	10.3667		
2.00	12		16.5333	16.5333	
3.00	12			20.8417	20.8417
4.00	12				26.4833
Sig.		.352	.091	.234	.121

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

**B\_NO2**

Duncan

AI	N	Subset for alpha = .05													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
17.0	3	.6667													
16.0	3	.8333													
18.0	3		.1333												
19.0	3		.7000												
6.00	3			.9333											
20.0	3			.9333											
7.00	3				.1333										
1.00	3				.2667										
11.0	3				.0000										
2.00	3					.3333									
8.00	3					.3333									
12.0	3						.3333								
9.00	3							.0000							
3.00	3								.6667						
10.0	3									.6667					
13.0	3										.0000				
4.00	3											.0000			
14.0	3												.6667		
5.00	3													.3333	
15.0	3														.0000
Sig.		.693	.183	1.000	.056	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

aUses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Analysis of Variance for **Bakteri\_Hetero**, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	47754	47754	15918	29.13	0.000 **
I	4	130086	130086	32521	59.51	0.000 **
A*I	12	23374	23374	1948	3.56	0.001 **
Error	40	21861	21861	547		
Total	59	223074				

Least Squares Means for B\_Hetero

A	Mean	SE Mean
0	44.667	6.036
1	99.000	6.036
2	121.867	6.036
3	81.333	6.036
I		
0	16.000	6.749
1	46.667	6.749
2	118.583	6.749
3	118.833	6.749
4	133.500	6.749
A*I		
0 0	7.333	13.497
0 1	31.333	13.497
0 2	34.333	13.497
0 3	78.667	13.497
0 4	71.667	13.497
1 0	17.000	13.497
1 1	40.333	13.497
1 2	142.333	13.497
1 3	145.333	13.497
1 4	150.000	13.497
2 0	25.000	13.497
2 1	76.000	13.497
2 2	185.667	13.497
2 3	130.667	13.497
2 4	192.000	13.497
3 0	14.667	13.497
3 1	39.000	13.497
3 2	112.000	13.497
3 3	120.667	13.497
3 4	120.333	13.497

**B\_HETERO**Duncan <sup>a</sup>

A	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	15	44.6667	
3.00	15	81.3333	81.3333
1.00	15		99.0000
2.00	15		121.8667
Sig.		.078	.065

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

**B\_HETERO**Duncan <sup>a</sup>

I	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	12	16.0000	
1.00	12	46.6667	
2.00	12		118.5833
3.00	12		118.8333
4.00	12		133.5000
Sig.		.073	.408

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

**B\_HETERO**Duncan<sup>a</sup>

AI	N	Subset for alpha = .05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
16.00	3	7.3333							
11.00	3	14.6667							
1.00	3	17.0000							
6.00	3	25.0000							
17.00	3	31.3333	31.3333						
18.00	3	34.3333	34.3333	34.3333					
12.00	3	39.0000	39.0000	39.0000	39.0000				
2.00	3	40.3333	40.3333	40.3333	40.3333				
20.00	3		71.6667	71.6667	71.6667	71.6667			
7.00	3			76.0000	76.0000	76.0000			
19.00	3				78.6667	78.6667			
13.00	3					112.0000	112.0000		
15.00	3						120.3333		
14.00	3						120.6667		
9.00	3						130.6667		
3.00	3						142.3333		
4.00	3						145.3333	145.3333	
5.00	3						150.0000	150.0000	
8.00	3							185.6667	185.6667
10.00	3								192.0000
Sig.		.146	.065	.056	.069	.059	.091	.051	.742

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Analysis of Variance for **Actino**, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	15025.6	15025.6	5008.5	4232.58	0.000
I	4	48545.1	48545.1	12136.3	1.0E+04	0.000
A*I	12	5052.9	5052.9	421.1	355.84	0.000
Error	40	47.3	47.3	1.2		
Total	59	68671.0				

Least Squares Means for Actino

A	Mean	SE Mean
0	22.133	0.2809
1	46.600	0.2809
2	66.800	0.2809
3	46.400	0.2809
I		
0	9.833	0.3140
1	11.667	0.3140
2	65.000	0.3140
3	69.333	0.3140

```

4      71.583    0.3140
A*I
0 0      4.000    0.6280
0 1      5.333    0.6280
0 2     32.000    0.6280
0 3     34.333    0.6280
0 4     35.000    0.6280
1 0      8.667    0.6280
1 1     11.000    0.6280
1 2     68.667    0.6280
1 3     69.667    0.6280
1 4     75.000    0.6280
2 0     18.333    0.6280
2 1     19.333    0.6280
2 2     98.000    0.6280
2 3     98.333    0.6280
2 4    100.000    0.6280
3 0      8.333    0.6280
3 1     11.000    0.6280
3 2     61.333    0.6280
3 3     75.000    0.6280
3 4     76.333    0.6280

```

### ACTINO

Duncan<sup>a</sup>

AI	N	Subset for alpha = .05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
16.00	3	4.0000										
17.00	3	5.3333										
11.00	3		8.3333									
1.00	3		8.6667									
2.00	3			11.0000								
12.00	3			11.0000								
6.00	3				18.3333							
7.00	3				19.3333							
18.00	3					32.0000						
19.00	3						34.3333					
20.00	3						35.0000					
13.00	3							61.3333				
3.00	3								68.6667			
4.00	3								69.6667			
5.00	3									75.0000		
14.00	3									75.0000		
15.00	3									76.3333		
8.00	3										98.0000	
9.00	3										98.3333	98.3333
10.00	3											00.0000
Sig.		.141	.709	1.000	.267	1.000	.457	1.000	.267	.164	.709	.068

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Analysis of Variance for **Fungi**, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
A	3	22404	22404	7468	5744.66	0.000
I	4	376592	376592	94148	7.2E+04	0.000
A*I	12	32427	32427	2702	2078.63	0.000
Error	40	52	52	1		
Total	59	431475				

Least Squares Means for Fungi

A	Mean	SE Mean
0	42.133	0.2944
1	68.000	0.2944
2	96.400	0.2944
3	63.667	0.2944
I		
0	222.167	0.3291
1	56.917	0.3291
2	35.250	0.3291
3	18.167	0.3291
4	5.250	0.3291
A*I		
0 0	143.333	0.6583
0 1	30.333	0.6583
0 2	23.000	0.6583
0 3	11.667	0.6583
0 4	2.333	0.6583
1 0	217.667	0.6583
1 1	62.000	0.6583
1 2	38.333	0.6583
1 3	15.667	0.6583
1 4	6.333	0.6583
2 0	323.000	0.6583
2 1	75.000	0.6583
2 2	45.333	0.6583



2	3	30.667	0.6583
2	4	8.000	0.6583
3	0	204.667	0.6583
3	1	60.333	0.6583
3	2	34.333	0.6583
3	3	14.667	0.6583
3	4	4.333	0.6583

### FUNGI

Duncan

AI	N	Subset for alpha = .05															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
20.0	3	.3333															
15.0	3		.3333														
5.00	3			.3333													
10.0	3			.0000													
19.0	3				.6667												
14.0	3					.6667											
4.00	3					.6667											
18.0	3						.0000										
17.0	3							.3333									
9.00	3							.6667									
13.0	3								.3333								
3.00	3									.3333							
8.00	3										.3333						
12.0	3											.3333					
2.00	3											.0000					
7.00	3												.0000				
16.0	3													.3333			
11.0	3														.6667		
1.00	3															.6667	
6.00	3																.0000
Sig.		1.000	1.000	.081	1.000	.289	1.000	.722	1.000	1.000	1.000	.081	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

aUses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

### Stepwise Regression: Pot-Nt versus B\_NH4, B\_NO2, ...

Alpha-to-Enter: 0.15 Alpha-to-Remove: 0.15  
 Response is Pot-Nt on 13 predictors, with N = 60

Step	1	2	3	4	5	6	
7							
Constant	23.24	33.63	55.15	67.31	51.58	51.98	
51.19							
SuhuTnh	-0.80	-1.16	-0.84	-1.03	-0.63	-0.10	
T-Value	-5.95	-7.82	-5.24	-6.73	-4.10	-0.52	
P-Value	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.603	
Fungi		-0.0080	-0.0107	-0.0146	-0.0168	-0.0190	-
0.0191							
T-Value		-4.08	-5.58	-7.24	-9.49	-11.14	-
11.41							
P-Value		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
0.000							
Klmbn			-0.73	-0.92	-0.78	-1.11	-
1.16							
T-Value			-3.69	-4.94	-4.85	-6.50	-
8.02							
P-Value			0.001	0.000	0.000	0.000	
0.000							
Selulosa				0.056	0.086	0.106	
0.108							
T-Value				3.75	6.07	7.64	
8.19							
P-Value				0.000	0.000	0.000	
0.000							
Actino					-0.0261	-0.0413	-
0.0438							
T-Value					-4.76	-6.39	-
10.33							
P-Value					0.000	0.000	
0.000							
C/N						-0.117	-
0.129							
T-Value						-3.66	-
5.86							
P-Value						0.001	
0.000							
S	1.16	1.03	0.935	0.842	0.713	0.643	
0.639							

R-Sq	37.92	51.93	61.34	69.20	78.29	82.67
82.58						
R-Sq(adj)	36.85	50.25	59.27	66.96	76.28	80.71
80.97						
C-p	205.9	148.8	111.1	79.9	43.6	27.1
25.5						

### Regression Analysis: Pot-Nt versus Fungi, Klmbn, Selulosa, Actino, C/N

The regression equation is

$$\text{Pot-Nt} = 51.2 - 0.0191 \text{ Fungi} - 1.16 \text{ Klmbn} + 0.108 \text{ Selulosa} - 0.0438 \text{ Actino} - 0.129 \text{ C/N}$$

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	51.188	5.924	8.64	0.000
Fungi	-0.019124	0.001676	-11.41	0.000
Klmbn	-1.1582	0.1445	-8.02	0.000
Selulosa	0.10834	0.01323	8.19	0.000
Actino	-0.043816	0.004242	-10.33	0.000
C/N	-0.12859	0.02196	-5.86	0.000

S = 0.6390      R-Sq = 82.6%      R-Sq(adj) = 81.0%

### Stepwise Regression: Pot-Nt versus B\_NH4, B\_NO2, ...

Alpha-to-Enter: 0.15 Alpha-to-Remove: 0.15  
Response is Pot-Nt on 13 predictors, with N = 60

Step	1	2	3	4	5	6	7
Constant	23.24	33.63	55.15	67.31	51.58	51.98	
SuhuTnh	-0.80	-1.16	-0.84	-1.03	-0.63	-0.10	
T-Value	-5.95	-7.82	-5.24	-6.73	-4.10	-0.52	
P-Value	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.603	
Fungi		-0.0080	-0.0107	-0.0146	-0.0168	-0.0190	-
0.0191							
T-Value		-4.08	-5.58	-7.24	-9.49	-11.14	-
11.41							
P-Value		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
0.000							
Klmbn			-0.73	-0.92	-0.78	-1.11	-
1.16							
T-Value			-3.69	-4.94	-4.85	-6.50	-
8.02							
P-Value			0.001	0.000	0.000	0.000	
0.000							
Selulosa				0.056	0.086	0.106	
0.108							
T-Value				3.75	6.07	7.64	
8.19							
P-Value				0.000	0.000	0.000	
0.000							
Actino					-0.0261	-0.0413	-
0.0438							
T-Value					-4.76	-6.39	-
10.33							
P-Value					0.000	0.000	
0.000							
C/N						-0.117	-
0.129							
T-Value						-3.66	-
5.86							
P-Value						0.001	
0.000							
S	1.16	1.03	0.935	0.842	0.713	0.643	
0.639							
R-Sq	37.92	51.93	61.34	69.20	78.29	82.67	
82.58							
R-Sq(adj)	36.85	50.25	59.27	66.96	76.28	80.71	
80.97							
C-p	205.9	148.8	111.1	79.9	43.6	27.1	
25.5							

### Regression Analysis: Pot-Nt versus Fungi, Klmbn, Selulosa, Actino, C/N

The regression equation is

Pot-Nt = 51.2 - 0.0191 Fungi - 1.16 Klmbn + 0.108 Selulosa - 0.0438  
Actino

- 0.129 C/N

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	51.188	5.924	8.64	0.000
Fungi	-0.019124	0.001676	-11.41	0.000
Klmbn	-1.1582	0.1445	-8.02	0.000
Selulosa	0.10834	0.01323	8.19	0.000
Actino	-0.043816	0.004242	-10.33	0.000
C/N	-0.12859	0.02196	-5.86	0.000

S = 0.6390      R-Sq = 82.6%      R-Sq(adj) = 81.0%